



Funktionalisierte anorganische Nanopartikel: Von Nanokapseln, Photodynamischer Therapie und Thermochromie

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

Dr. rer. nat.

vorgelegt von

Janine Schwiertz

aus Mülheim an der Ruhr

Institut für Anorganische Chemie
der
Universität Duisburg-Essen

2008

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum vom 1. Januar 2006 bis zum 9. Dezember 2008 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Matthias Epple im Institut für Anorganische Chemie der Universität Duisburg-Essen durchgeführt.

Gutachter: Prof. Dr. Matthias Epple
Prof. Dr. Christian Mayer

Vorsitzender: Prof. Dr. Mathias Ulbricht

Tag der Disputation: 13. Februar 2009

meinem Großvater Ewald Balduin

1. Einleitung	1
2. Theoretischer Hintergrund	3
2.1 Grundlagen der Kolloidchemie	3
2.1.1 Definition	3
2.1.2 Thermodynamische Betrachtung der Stabilität kolloidaler Systeme	3
2.2 In dieser Arbeit verwendete Untersuchungsmethoden.....	9
2.2.1 Dynamische Lichtstreuung (DLS) und Zetapotential	9
2.2.2. Rasterelektronenmikroskopie (REM) und Energiedispersive Röntgenabsorptionsspektroskopie (EDX)	11
2.2.3 (Hochauflösende) Transmissionselektronenmikroskopie ((HR)TEM).....	12
2.2.4 Rasterkraftmikroskopie (<i>atomic force microscopy</i> , AFM)	12
2.2.5 Röntgenpulverdiffraktometrie (<i>X-ray diffraction</i> , XRD)	13
2.2.6 Thermogravimetrie (TG).....	14
2.2.7 Dynamische Differenzkalorimetrie (<i>differential scanning calorimetry</i> , DSC)	14
2.2.8 UV/Vis-Spektroskopie	15
2.2.9 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) und Elementaranalyse (EA)	15
3. Ergebnisse und Diskussion.....	17
3.1 Bestimmung der Enthalpieänderung bei der Bildung von Calciumphosphat- Nanopartikeln	17
3.1.1 Einführung in die Thematik	17
3.1.2 Experimenteller Aufbau	19
3.1.2.1 Aufbau des verwendeten Kalorimeters	19
3.1.2.2 Reaktion von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	22
3.1.3 Ergebnisse und Diskussion	24
3.1.4 Zusammenfassung.....	41
3.2 Funktionalisierung von Calciumphosphat-Nanopartikeln mit synthetischen und biologischen Polymeren	43
3.2.1 Einführung in die Thematik	43
3.2.2 Experimenteller Aufbau	45
3.2.3 Ergebnisse und Diskussion	48

3.2.3.1 Charakterisierung der mit Polyallylaminhydrochlorid funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel	48
3.2.3.2 Charakterisierung der mit Polystyrolsulfonat funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel	52
3.2.3.3 Charakterisierung der mit verzweigtem Polyethylenimin funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel	56
3.2.3.4 Charakterisierung der mit Carboxymethylcellulose funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel	60
3.2.3.5 Charakterisierung der ι -Carrageen funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel	64
3.2.4 Vergleich der vorgestellten Partikel und Zusammenfassung	69
3.3 Darstellung von Polymer-Nanokapseln auf der Basis von Templaten aus Calciumphosphat-Nanopartikeln	71
3.3.1 Einführung in die Thematik	71
3.3.2 Ergebnisse und Diskussion	74
3.3.3 Experimenteller Aufbau	86
3.3.4 Zusammenfassung	89
3.4 Calciumphosphat-Nanopartikel als Wirkstoffträger in der Photodynamischen Therapie	90
3.4.1 Einführung in die Thematik und Aufgabenstellung	90
3.4.2 Experimenteller Aufbau	96
3.4.2.1 Darstellung von mit PSS funktionalisierten und mit Methylenblau beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln	97
3.4.2.2 Darstellung von mit PSS funktionalisierten und mit 5,10,15,20-Tetrakis(hydroxyphenyl)porphyrin beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln ...	98
3.4.2.3 Umladung der Partikeloberfläche von mit PSS funktionalisierten und mit <i>m</i> THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln	100
3.4.2.4 Darstellung von mit CMC-funktionalisierten und mit <i>m</i> THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln	100
3.4.2.5 Umladung der Partikeloberfläche von mit CMC-funktionalisierten und mit <i>m</i> THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln	101
3.4.2.6 Durchführung der Zelltests	102
3.4.2.7 Durchführung der Bakterientests	103

3.4.3 Ergebnisse und Diskussion	104
3.4.3.1 Charakterisierung der mit PSS funktionalisierten und mit Methylenblau- beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel	107
3.4.3.2 Charakterisierung der mit PSS funktionalisierten und mit <i>m</i> THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel	110
3.4.3.3 Charakterisierung der mit PSS/PAH funktionalisierten und mit <i>m</i> THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel	116
3.4.3.4 Ergebnisse der Zelltests der CaP/PSS/ <i>m</i> THPP- und CaP/PSS/ <i>m</i> THPP/PAH-Nanopartikel	118
3.4.3.5 Charakterisierung der mit CMC funktionalisierten und mit <i>m</i> THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel	125
3.4.3.6 Charakterisierung der mit CMC/PEI funktionalisierten und mit <i>m</i> THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel	130
3.4.3.7 Ergebnisse der Zelltests der CaP/CMC/ <i>m</i> THPP- und CaP/CMC/ <i>m</i> THPP/PEI-Nanopartikel	132
3.4.3.8 Ergebnisse der Bakterientests	139
3.4.4. Zusammenfassung	144
3.5 Synthese von thermochromen Disilbertetraiodomercurat (Ag_2Hgl_4)- Nanopartikeln	150
3.5.1 Einführung in die Thematik	150
3.5.2 Experimenteller Aufbau	152
3.5.3 Ergebnisse und Diskussion	155
3.5.3.1 Charakterisierung der mit PAA funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel .	155
3.5.3.2 Charakterisierung der mit PSS funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel .	159
3.5.3.3 Charakterisierung der mit PVA funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel .	163
3.5.3.4 Charakterisierung der mit PVP funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel .	167
3.5.3.5 Charakterisierung der unfunktionalisierten, makroskopischen Ag_2Hgl_4 - Phase	172
3.5.4 Vergleich der verschieden funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel und Zusammenfassung	175
4. Zusammenfassung	180
5. Literatur	182

Inhaltsverzeichnis

6. Anhang	194
6.1 Abkürzungsverzeichnis	194
6.2 Gefahrstoffe und Entsorgung.....	196
6.3 Publikationsliste	197
6.4 Lebenslauf.....	199
Eidesstattliche Erklärung.....	200
Danksagung	201

1. Einleitung

Wer hat heutzutage nicht schon von der Nanotechnologie gehört? Nanotechnologie, das ist die Technologie der kleinen Teilchen, eben derer im Nanometerbereich. Ein Nanometer (nm) sind 10^{-9} Meter (m), das ist in etwa die Relation zwischen dem Durchmesser eines 1 Cent-Stücks und dem Durchmesser unserer Erde. Das kleine Wort „Nano“ ist gegenwärtig in aller Munde und anscheinend mit fast jedem innovativen Produkt käuflich. So wirbt die Kosmetikindustrie mit hautstraffender Nano-Kosmetik. Man kann Autos mit Nanolackierung kaufen, die besonders kratzfest ist. Fensterglas und Keramiken, z.B. im Badezimmer, sind durch eine Topographie im Nanometerbereich wasserabweisend; und sind sie es nicht ab Werk, so kann man sogenannte Nanoversiegler überall erwerben. Ein innovativer Sportler trägt heute Sportkleidung mit eingebautem Nanosilber, wodurch eine antibakterielle Wirkung erzielt wird, um nur einige wenige Beispiele zu nennen.

Ausschlaggebend für das allgemeine Interesse an funktionellen Nanopartikeln oder nanostrukturierten Oberflächen ist, dass bei dem Übergang eines Materials von seiner makroskopischen Volumenphase zu nanoskaligen Dimensionen das Verhältnis der Oberfläche zum Volumen des Materials erheblich ansteigt. Die Oberfläche bzw. die Grenzfläche zwischen den Partikeln und deren Umgebung gewinnt zunehmend an Bedeutung. Dies kann die chemischen, magnetischen, optischen oder elektrischen Eigenschaften eines Materials verändern. Neue Materialeigenschaften sind Ausgangspunkt für neue Anwendungsgebiete oder für die Optimierung bereits bestehender Anwendungsgebiete.

In dieser Arbeit werden zwei gänzlich verschiedene anorganische Nanopartikel-Systeme diskutiert. Auf der einen Seite werden die bereits bekannten und wohl etablierten Calciumphosphat-Nanopartikel mit neuartigen Funktionalisierungen im Hinblick auf medizinisch relevante Anwendungen behandelt. Dabei wird die Darstellung der Calciumphosphat-Nanopartikel im Kapitel 3.1 aus thermodynamischer Sicht betrachtet. Die Reaktionsenthalpie der Partikel wird in Abhängigkeit des pH-Wertes untersucht. Im Kapitel 3.2 wird anschließend die Funktionalisierung der Calciumphosphat-Nanopartikel mit verschiedenen synthetischen und biologischen Polymeren betrachtet. Über die Funktionalisierung der Partikel ist es möglich, stabile kolloidale Dispersionen darzustellen. Die so entstehenden Kolloide werden eingehend durch verschiedenste Methoden analysiert

und charakterisiert. Auf der Basis von Calciumphosphat-Nanopartikeldispersionen schließen sich in den Kapiteln 3.3 und 3.4 zwei Anwendungsmöglichkeiten an. Als erstes wird der Einsatz von Calciumphosphat-Nanopartikeln als Templatkerne zur Nanokapselsynthese diskutiert. Als zweites wird der Einsatz von Calciumphosphat-Nanopartikeln als Wirkstoffträgersystem für die Photodynamische Therapie behandelt.

Auf der anderen Seite steht die thermochrome Verbindung Disilbertetraiodomercurat (Ag_2HgI_4). Ag_2HgI_4 ist besonders interessant durch die Eigenschaft, die Farbe temperaturabhängig und reversibel zu ändern. Diese Eigenschaft nennt sich Thermochromie. Das Kapitel 3.5 umfasst die Charakterisierung von im Rahmen dieser Arbeit erstmals in funktionalisierter und nanopartikulärer Form dargestellten Ag_2HgI_4 -Nanopartikeln. Dabei wird der Einfluss der Partikelgröße und der Funktionalisierung auf die Eigenschaft der Thermochromie diskutiert.

2. Theoretischer Hintergrund

2.1 Grundlagen der Kolloidchemie

2.1.1 Definition

Der Begriff Kolloid wurde erstmalig 1861 von Thomas Graham (1805-1869) für Stoffe in Lösungen, die nicht durch Membranen permeierten, verwendet. Kolloidale Systeme bestehen aus einer dispersen und einer kontinuierlichen Phase. Dabei ist die disperse in der kontinuierlichen Phase fein verteilt. Die kontinuierliche Phase wird oft auch als Dispersionsmittel bezeichnet. In kolloidalen Systemen können sowohl die disperse als auch die kontinuierliche Phase in festem, flüssigem oder gasförmigem Zustand vorliegen. Dabei sind fast alle Kombinationen dieser Zustände möglich. Tabelle 1 zeigt einige Beispiele.

Tabelle 1: Beispiele kolloidaler Systeme (entnommen aus Referenz^[1]).

Beispiel	Klasse	Disperse Phase	Dispersionsmittel
Nebel, Dunst	flüssige Aerosole	Flüssigkeit	Gas
Rauch	feste Aerosole	Feststoff	Gas
Butter, Creme	Emulsionen	Flüssigkeit	Flüssigkeit
Farben, Lacke	kolloidale Dispersionen	Feststoff	Flüssigkeit
Opalglas	feste Suspension	Feststoff	Feststoff
Schäume	Schaum	Gas	Flüssigkeit
Schaumstoffe	fester Schaum	Gas	Feststoff

2.1.2 Thermodynamische Betrachtung der Stabilität kolloidaler Systeme

Allgemein gültig ist die Aussage, dass Systeme bei konstanter Temperatur grundsätzlich dazu tendieren, spontan den Zustand geringster freier Energie einzunehmen. Aufgrund der großen Gesamtoberflächen von kolloidalen Partikeln liegt ein Großteil der Moleküle an der Grenzfläche zwischen dispergierter und kontinuierlicher Phase vor. Die Oberflächenenergie der Partikel nimmt so einen großen Einfluss auf die gesamte freie Energie des Systems. Wird z.B. eine feste Substanz in einem flüssigen Medium dispergiert, so ist die Zunahme der freien Energie des Systems proportional zur gebildeten Oberfläche. Sie ergibt sich aus der Differenz zwischen den auf die Moleküle an der Oberfläche wirkenden Kräfte und

2. Theoretischer Hintergrund

den Kräften, die auf sie wirken würden, wenn sie in der makroskopischen Phase vorlägen. Das System geht so durch die Dispergierung in einen metastabilen Zustand über (Abbildung 1).

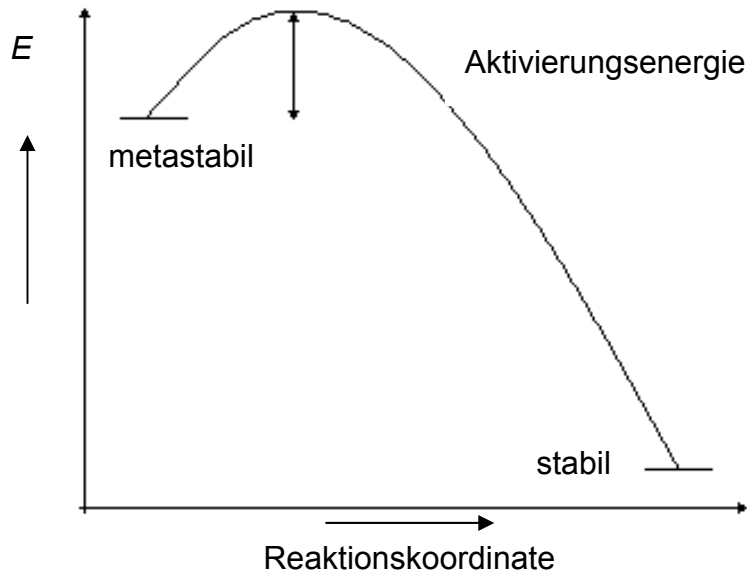


Abbildung 1: Energiediagramm.

Ob und wie lange das System in diesem Zustand verharrt, hängt von Art und Stärke der Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Teilchen ab, die in abstoßende und anziehende Wechselwirkungen einzuteilen sind. Die anziehenden Wechselwirkungen entstehen durch die Fluktuation elektrischer Dipole und werden als van-der-Waals Kräfte bezeichnet. Die abstoßenden Wechselwirkungen ergeben sich aus elektrostatischen Kräften. Dabei spielt die Ausbildung einer elektrostatischen Doppelschicht an den Partikeloberflächen die entscheidende Rolle. Bei der Dispersion von Teilchen in flüssigem Medium entsteht an der Teilchenoberfläche eine Oberflächenladung, die oft auch als Ladungswolke bezeichnet wird. Diese Ladungswolke wird durch die Anlagerung von Gegenionen kompensiert. Die Gegenionen bilden die so genannte elektrostatische Doppelschicht, welche wiederum aus einer inneren starren stark gebundene (Stern-) Schicht und einer äußeren diffusen Schicht besteht. In die diffuse Schicht können Ionen hinein und hinaus diffundieren. So entsteht trotz der Dynamik der Ionen im Mittel ein stationärer Zustand. Bewegt sich nun das Partikel, so bewegen sich gleichzeitig die Ionen des Verbundes mit ihm. Ionen außerhalb des Verbundes wandern nicht mit. Zum umgebenen Medium hin stellt sich zwischen diffuser und starrer Schicht ein

2. Theoretischer Hintergrund

Potentialabfall ein, wobei dieser bezüglich der diffusen Schicht exponentiell und bezüglich der starren Schicht linear abfällt. Die daraus resultierende Potentialdifferenz ist als Zetapotential definiert. Abbildung 2 zeigt die schematische Darstellung der elektrostatischen Doppelschicht und die daraus resultierenden Potentiale.

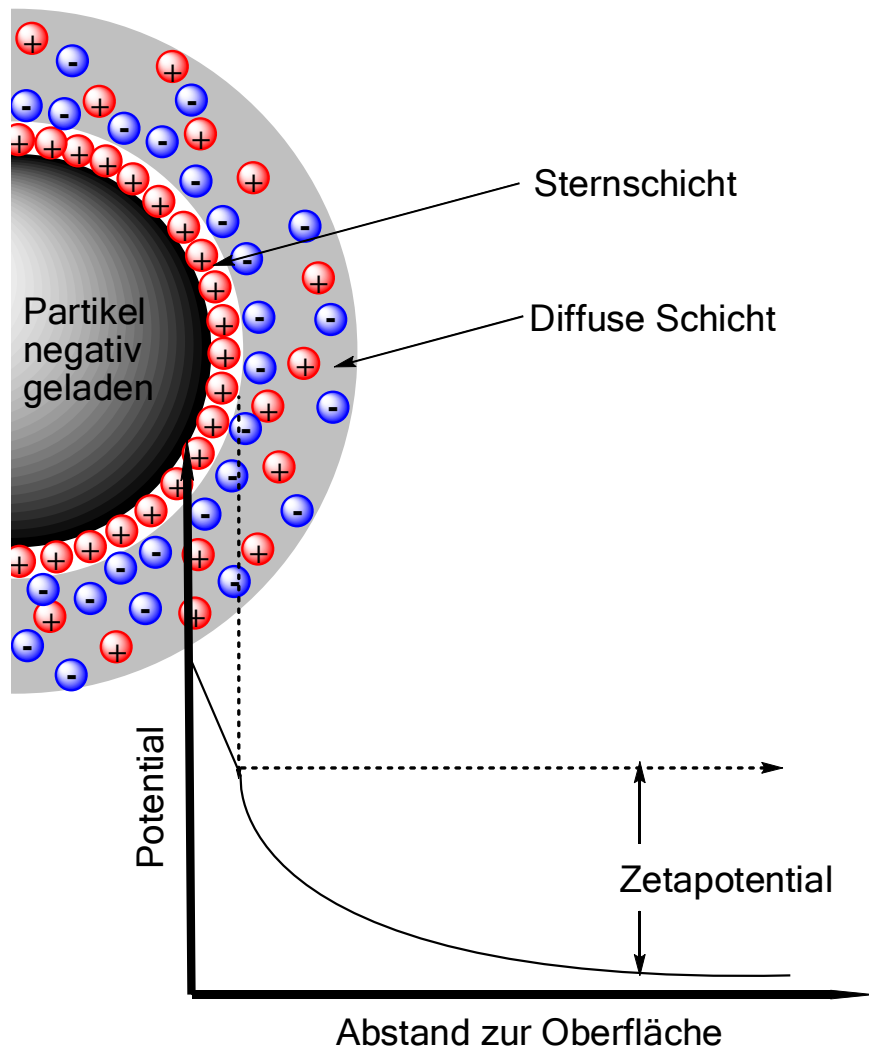


Abbildung 2: Schematische Darstellung der elektrostatischen Doppelschicht.

Das Zetapotential ist ein Maß für die Ladung und elektrostatische Abstoßung kolloidaler Teilchen und kann über die Bestimmung der elektrophoretischen Mobilität der Kolloide erhalten werden. Ist das Zetapotential einer kolloidalen Dispersion größer als ± 30 mV, so kann sie als stabil angenommen werden.^[2] Im Bereich zwischen -30 und $+30$ mV ist die kolloidale Dispersion instabil. Es kommt zur so genannten Flockung. Flockung ist die Bezeichnung für die Bildung von größeren Partikelaggregaten, die auch als Agglomerate oder Koagulate bezeichnet werden

2. Theoretischer Hintergrund

können. Flockung kann reversibel sein, d. h. die kolloidale Dispersion kann durch Anlegung von Scherkräften, wie starkem mechanischen Rühren bzw. Ultraschall, wieder hergestellt werden. Ist der Agglomeration eine Rekristallisation der Partikel angeschlossen, so ist diese irreversibel. An Flockung schließt sich in den meisten Fällen Sedimentation an. Die vorher ineinander dispergierten Phasen trennen sich in ihre Volumenphasen auf.

Nach der DLVO-Theorie (nach Derjaguin, Landau, Vervy und Overbeek) ergibt sich die gesamte Wechselwirkungskraft zwischen den Partikeln einer kolloidalen Dispersion aus den Überlagerungen der abstoßenden und anziehenden Wechselwirkungen. Vier Beispiele zu möglichen Energiesituationen sind in Abbildung 3 dargestellt.

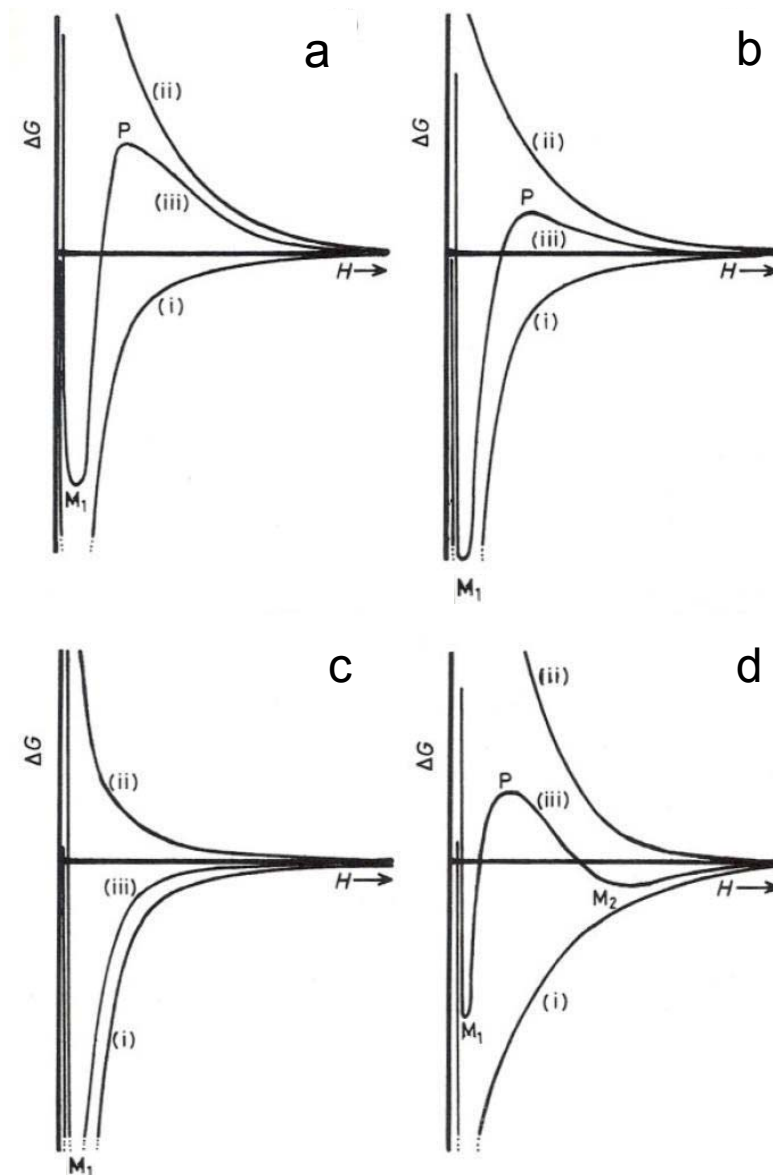


Abbildung 3: Graphische Darstellung vier möglicher Potentialverläufe bezüglich der Wechselwirkungen zwischen kolloidalen Partikeln (entnommen aus Referenz ^[1]).

Die Änderung der freien Energie ΔG ist gegen den Abstand (H) zwischen den Teilchen aufgetragen. Die Kurve der gesamten freien Wechselwirkung (iii) entsteht aus der Summe von anziehenden (i) und abstoßenden Wechselwirkungen (ii). Diagramm **a** zeigt eine Situation mit stark abstoßenden Wechselwirkungen. Durch diese entsteht ein primäres Maximum P, eine hohe Energiebarriere zwischen Trennung und Kontakt der Teilchen. Die kolloidale Dispersion ist stabil. Diagramm **b** zeigt eine Situation mit schwachen abstoßenden Wechselwirkungen. Das primäre Maximum P kann leicht überwunden werden und das System erreicht dann das stabile primäre Minimum M_1 . Die kolloidale Dispersion ist nicht stabil und geht in die

2. Theoretischer Hintergrund

Volumenphasen über. Diagramm **c** steigert die durch Diagramm **b** beschriebene Energiebetrachtung. Es liegt keine Energiebarriere vor, sodass das System ohne Aktivierungsenergie aufbringen zu müssen in das primäre Minimum M_1 übergehen kann. Diagramm **d** stellt den Zustand eines teilkoagulierten kolloidalen Systems dar. Hierbei ist zwar ein hohes primäres Maximum, aber auch ein zusätzliches sekundäres Minimum M_2 vorhanden. Das Verharren der Teilchen in diesem Energieminimum führt zu erhöhter Viskosität der Dispersion und zu meist reversibler Flockenbildung. Bei den vier Diagrammen werden nur Abstoßungskräfte mit kurzen Reichweiten von typischerweise 5-100 nm berücksichtigt, wobei diese von der Dicke der elektrostatischen Doppelschicht und somit von der Ionenstärke abhängig sind. Bei geringer Ionenkonzentration werden große Reichweiten und damit stabile kolloidale Systeme bewirkt.

Die Alterung von Dispersionskolloiden zeigt, dass zunächst stabile kolloidale Systeme mit der Zeit Agglomerate bilden und/oder sedimentieren. Dies geschieht, wenn die Aktivierungsenergie aufgebracht und das primäre Maximum überwunden werden können, bzw. das Maximum durch äußere Einflüsse wie Temperatur, Druck und Änderung der Zusammensetzung der kontinuierlichen Phase herabgesetzt wird. Aber auch die Löslichkeit der Partikel, die abhängig von ihrer Größe variiert, spielt eine wichtige Rolle. Kleinere Partikel sind leichter löslich als große Partikel, wobei die makroskopische Phase am schwerlöslichsten ist. So sollten nach folgender Gleichung streng monodisperse Systeme nicht altern:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{qDc_0}{\delta} \left[e^{\frac{\gamma_{sl}}{r_1 RT}} - e^{\frac{\gamma_{sl}}{r_2 RT}} \right] \quad \text{Gleichung 1}^{[3]}$$

mit:

dm/dt : Alterungsgeschwindigkeit

c_0 : Löslichkeit der makroskopischen Phase

γ_{sl} : Grenzflächenspannung

D : Diffusionskoeffizient

T : Temperatur

δ : Viskosität

Sobald allerdings ein geringer Teil der Partikel von der einheitlichen Größe abweicht, wird die Alterung einsetzen. Es ist verständlich, dass die Herstellung streng monodisperser Kolloide nahezu unmöglich ist, wodurch die Alterung und der damit einhergehende Zerfall kolloidaler Systeme als natürlicher Prozess angesehen werden können.

2.2 In dieser Arbeit verwendete Untersuchungsmethoden

2.2.1 Dynamische Lichtstreuung (DLS) und Zetapotential

Die Bestimmung der Größenverteilungen und des Zetapotentials der in der Arbeit dargestellten Partikel wurden mit einem Malvern Zetasizer NanoZS (633 nm Laser) über die Methode der Dynamischen Lichtstreuung durchgeführt. Für die automatisierte Zugabe diverser Substanzen wurde an den Zetasizer ein Malvern MPT-2 ZEN 1001 Autotitrator angeschlossen.

Dynamische Lichtstreuung ist ein Verfahren zur Bestimmung der hydrodynamischen Radien von Partikeln. Die Bestimmung erfolgt aus der Messung der Brown'schen Molekularbewegung der Partikel und kann durch die Stokes-Einstein-Beziehung errechnet werden:

$$r = \frac{R \cdot T}{D \cdot 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot N_A} \quad \text{Gleichung 2}$$

mit:

r : Teilchenradius

D : Diffusionskoeffizient

R : allgemeine Gaskonstante

N_A : Avogadro-Konstante

η : Viskosität der kontinuierlichen Phase

T : Temperatur

Trifft nun ein Laserstrahl auf ein Teilchen, so streut dieses das Licht in alle Richtungen. In einer Probe sind typischerweise eine Vielzahl von Partikeln vorhanden. Durch das an der Vielzahl von Teilchen gestreute Licht resultieren konstruktive und destruktive Interferenzen, die auf einem Schirm als helle und dunkle

2. Theoretischer Hintergrund

Gebiete abgebildet werden können. Da die Partikel der Brown'schen Molekularbewegung folgen, fluktuiert die Intensität der Gebiete in Abhängigkeit von der Größe der Partikel. Über die Messung der Fluktuation mit Hilfe einer internen Komponente errechnet der Zetasizer über die Cumulantenmethode^[4] die Größenverteilung der Partikel, den so genannten *z-Average*. Eine interne Prozedur leitet zusätzlich die Verteilung der Partikelgröße von dem Abfall der konstanten Streuung der Autokorrelationsfunktion auf der Basis der Stokes-Einstein Beziehung (2) ab, wodurch der PDI erhalten wird.^[5] Der PDI gibt den Fehler des *z-Average* an.

Das Zetapotential kann nicht direkt gemessen, sondern muss über die Bestimmung der elektrophoretischen Mobilität der Partikel ermittelt werden. Die Messzelle hat an beiden Enden Elektroden, an die eine definierte Spannung angelegt wird. Die Partikel wandern zur entsprechenden Elektrode entgegen gesetzter Ladung. Dabei wird die Geschwindigkeit der Partikel gemessen und bezüglich der Feldstärke als ihre Mobilität ausgedrückt. Die Messung der Geschwindigkeit erfolgt über die so genannte Methode der *Laser Doppler Velocimetry*. Ein Laserstrahl wird auf die in der Kapillare befindliche Probe eingestrahlt. Das in einem bestimmten Winkel (hier 17°) an den Partikeln gestreute Licht wird mit einem Referenzstrahl kombiniert. Daraus ergibt sich ein fluktuierendes Intensitätssignal, wobei die Fluktuationsrate proportional der Partikelgeschwindigkeit ist.

Das Zetapotential ist über die Gleichung von Henry errechenbar:

$$U_E = \frac{2 \cdot \varepsilon \cdot \zeta \cdot f(\kappa a)}{3 \cdot \eta} \quad \text{Gleichung 3}$$

mit:

U_E = elektrophoretische Mobilität

ε = Dielektrizitätskonstante der kontinuierlichen Phase

ζ = Zetapotential

$f(\kappa a)$ = Henry-Funktion

η : Viskosität der kontinuierlichen Phase

Der Term ka beschreibt den Quotienten aus Partikelradius (a) und „Dicke“ der elektrostatischen Doppelschicht. $f(ka)$ ist im Falle der Messung im wässrigen Medium bei moderaten Elektrolytkonzentrationen ($> 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) und Partikelgrößen über 10 nm gleich 1.5 zu setzen. Dies wird auch die Smoluchowski-Näherung genannt.

2.2.2. Rasterelektronenmikroskopie (REM) und Energiedispersive Röntgenabsorptionsspektroskopie (EDX)

Die in der Arbeit gezeigten REM-Aufnahmen wurden mit einem FEI Quanta FEG 400 angefertigt. EDX-Messungen wurden mit einem EDAX EDS-Analysensystem des Typs „Genesis 4000“ durchgeführt.

Die Rasterelektronenmikroskopie ist eine Methode zur Abbildung von Oberflächen im μm - bzw. nm-Bereich. Dabei werden Elektronen thermisch emittiert, gebündelt und über angelegte Spannungen im Kilovoltbereich (5-30 kV) beschleunigt. Elektromagnetische Linsen dienen zur Fokussierung des Elektronenstrahls auf eine elektrisch leitfähige Probe. Ist die Probe selbst nicht leitend, so wird die benötigte Leitfähigkeit über die Präparation der Probe auf leitenden Materialien wie Kohleleitpads oder Si-Wafern und zusätzlichem Bedampfen mit z.B. Gold/Palladium erreicht. Der fokussierte Elektronenstrahl rastert die Oberfläche der Probe ab. Durch den Elektronenbeschuss der Atome in der Probe entstehen so genannte Sekundär- und Rückstreuelektronen, die durch Detektoren in elektrische Signale umgewandelt werden, woraus letztendlich ein Bild errechnet wird. Abhängig von der Wellenlänge der Elektronen, der Beschaffenheit der Probe und der Stärke der eingesetzten Beschleunigungsspannung sind Auflösungen von einigen wenigen Nanometern erreichbar. Zusätzlich kann neben der Abbildung der Probenoberfläche bei Vorhandensein eines entsprechenden Messgerätes auch die Zusammensetzung der Probe bestimmt werden. Diese Methode nennt sich Energiedispersive Röntgenemissionsspektroskopie (EDX). Dabei wird die ebenfalls bei Elektronenbeschuss emittierte, für jedes Element der Probe charakteristische, Röntgenstrahlung detektiert. Bei einer Analyse der emittierten Röntgenstrahlung in Abhängigkeit von der Energie ist es möglich, die enthaltenen Elemente zu identifizieren.

2.2.3 (Hochauflösende) Transmissionselektronenmikroskopie ((HR)TEM)

Die in der Arbeit gezeigten TEM-Aufnahmen wurden mit einem Philips CM 200 FEG angefertigt. Die hochauflösenden TEM-Aufnahmen wurden mit einem JEOL 3000FEG (ausgestattet mit einem Oxford LINK EDS analyser) angefertigt.

Das Prinzip der Transmissionselektronenmikroskopie ist ähnlich der Rasterelektronenmikroskopie. Elektronen werden thermisch emittiert und über eine angelegte Spannung beschleunigt. Die Spannungen bei der TEM liegen typischerweise bei 50-150 kV und damit deutlich über der der REM. Das Linsensystem besteht aus stromdurchflossenen Spulen, die ein elektromagnetisches Feld erzeugen und den Elektronenstrahl fokussieren. Der fokussierte Strahl trifft auf die Probe und durchstrahlt diese, wobei er teilweise abgelenkt wird. Die Elektronendichte in der Probe bestimmt den Grad der Ablenkung. Die gestreuten Elektronen werden über ein Objektiv gesammelt und ein Zwischenbild entsteht, welches weiter vergrößert auf einen Leuchtschirm projiziert wird. Das entstandene Bild kann zur Dokumentation abfotografiert werden. Bei moderneren Geräten besteht eine Verbindung zum Computer, der dann das Bild aufnimmt.

2.2.4 Rasterkraftmikroskopie (*atomic force microscopy*, AFM)

Das in dieser Arbeit gezeigte AFM-Bild wurde mit einem NanoWizard Rasterkraftmikroskop von JPK Instruments im Kontaktmodus aufgenommen.

Die Rasterkraftmikroskopie ist eine Methode zur Bestimmung der Oberflächenstruktur einer Probe. Dabei wird der Cantilever, ein Hebelarm an dem sich eine feine Siliciumspitze befindet, über die Probenoberfläche geführt. Die Siliciumspitze besteht an ihrer schmalsten Stelle idealerweise aus wenigen Atomen und hat eine Breite von 5-20 nm. Im Kontaktmodus steht die Siliciumspitze in direktem mechanischen Kontakt zu der Probenoberfläche, wodurch sich die Orbitale der Siliciumspitze und der Probe abstoßen. Die dadurch hervorgerufene Auslenkung des Cantilevers wird über die Reflexionsänderung eines Laserstrahls auf der Oberseite des Cantilevers detektiert. Die Oberfläche wird Zeile für Zeile abgerastert, was schließlich zu einer genauen Abbildung der Oberfläche mit Höhenprofil führt.

2.2.5 Röntgenpulverdiffraktometrie (*X-ray diffraction*, XRD)

Die in dieser Arbeit gezeigten Röntgenpulverdiffraktogramme wurden an einem STOE-Transmissions-Diffraktometer STADI P 2003-10 mit Cu K α -Strahlung $\lambda = 1.541$ nm durchgeführt. Ein temperatúraufgelöstes Röntgenpulverdiffraktogramm wurde an der Beamline B2 des DORIS III Speicherrings am HASYLAB (DESY) in Hamburg, mit Synchrotronstrahlung ($\lambda = 0.5981$ Å) durchgeführt.

Die Röntgenpulverdiffraktometrie ist eine Methode, mit der durch Röntgenbeugung die Kristallstruktur einer kristallinen Probe bestimmt werden kann. Ein monochromatischer Röntgenstrahl wird auf eine fein pulverisierte Probe gelenkt. Durch die ungeordnete Verteilung der Kristallite innerhalb der Probe orientieren sich statistisch gesehen alle Netzebenenscharen im Braggwinkel θ zum Primärstrahl. Das heißt, sie erfüllen die Bragg-Gleichung, und es kommt zu konstruktiven Interferenzen.

$$n \cdot \lambda = 2d\sin\theta \qquad \text{Gleichung 4}$$

n = Beugungsordnung

λ = Wellenlänge

d = Netzebenenabstand

θ = Beugungswinkel

Die gebeugten Strahlen können durch einen Detektor erfasst werden. Das entstehende Beugungsbild ist charakteristisch für die Probe und wird auch gerne als Fingerabdruck der Probe bezeichnet. Mit der Röntgenpulverdiffraktometrie ist es möglich, unbekannte Proben anhand ihres charakteristischen Beugungsbildes zu identifizieren. Das Beugungsbild wird hierfür mit in Datenbanken vorhandenen Diffraktogrammen (z.B. ICDD) verglichen. Dabei ist die Reflexlage die wichtigste Information. Da die Richtungsverteilung der Kristallite innerhalb einer Probe meist nicht gleichmäßig ist, kommt es zu sogenannten Formvorzugsorientierungen, wodurch die Reflexintensitäten variieren können. Liegt die Probe nanokristallin vor, so verbreitern sich die Reflexe. Ist eine Probe röntgenamorph, so verbreitern sich die Reflexe so weit, dass schließlich ein breiter Reflexberg entsteht. Die Probe ist so nicht mehr identifizierbar.

2.2.6 Thermogravimetrie (TG)

Die in dieser Arbeit gezeigten Thermogramme wurden an dem Gerät STA 409 PC/PG der Firma Netzsch aufgenommen. Die durchschnittlichen Probenmengen betrugen 12-35 mg. Als Probenhalter wurden offene Al_2O_3 -Tiegel verwendet. Alle Messungen wurden unter einer dynamischen O_2 -Atmosphäre (50 mL min^{-1}) bei einer Heizrate von 1 K min^{-1} oder 3 K min^{-1} durchgeführt.

Die Thermogravimetrie ist eine thermoanalytische Methode, bei der eine Probe in einer definierten Atmosphäre (inert: N_2 , Ar; oxidierend: O_2 ; reduzierend: H_2 /Luft) einer meist mit der Zeit linearen Temperaturerhöhung ausgesetzt wird. Die Probe befindet sich dabei in einem offenen Al_2O_3 -Tiegel auf einer feinen Thermowaage. Durch die Temperaturerhöhung tritt die thermische Zersetzung der Probe ein. Der Masseverlust der Probe wird in Form einer Zersetzungscurve bzw. eines Thermogramms dargestellt. Bei der Kopplung an ein Infrarot-(IR)spektrometer können die bei der Zersetzung der Probe entstehenden Gase sofort IR-spektroskopisch analysiert werden. Über den Verlauf der Zersetzungscurve und die Informationen des IRs lässt sich die Zusammensetzung der Probe bestimmen.

2.2.7 Dynamische Differenzkalorimetrie (*differential scanning calorimetry*, DSC)

Die in dieser Arbeit gezeigten DSC-Messungen wurden mit dem Gerät DSC 204 der Firma Netzsch aufgenommen. Es handelt sich hierbei um ein kalibriertes Wärmestrom-DSC mit angeschlossener N_2 -Kühleinheit. Die Probenmengen betrugen durchschnittlich 5-8 mg. Die Proben wurden in Aluminiumtiegel bei Umgebungsdruck an der Luft gemessen. Die Heizraten der Messungen betrugen 5 K min^{-1} .

Die DSC ist eine thermoanalytische Methode, bei der Wärmestromunterschiede zwischen der zu untersuchenden Probe und eine Referenzsubstanz als Funktion der Probentemperatur gemessen werden. Dabei werden die Probe und die Referenzsubstanz einem kontrollierten Temperaturprogramm unterworfen. Die Referenzsubstanz darf in dem verwendeten Temperaturfenster keiner thermodynamischen Umwandlung jeglicher Art unterliegen. Zeigt nun die zu vermessende Probe im verwendeten Temperaturfenster eine chemische oder physikalische Umwandlung z.B. Schmelzen, Verdampfen, Glasübergang (bei Polymeren) oder eine Phasenumwandlung, dann tritt eine Änderung des Wärmestroms der Probe ein. Die Temperaturdifferenz zwischen Probe und

Referenzsubstanz wird über empfindliche Thermoelemente gemessen. Diese Abweichung der Linearität wird von der DSC als endo- oder exothermes Ereignis wahrgenommen und als Signal gegen die Zeit oder Temperatur aufgetragen. Bei vorhergegangener Kalibration kann über die Integration der resultierenden Fläche des Signals die Enthalpie des Vorgangs bestimmt werden.

2.2.8 UV/Vis-Spektroskopie

Die in dieser Arbeit bestimmten UV/Vis-Spektren wurden mit einem Varian Cary WinUV Spektrophotometer in Quarzküvetten mit 1 cm Schichtdicke aufgenommen. Außerdem wurden alle Phosphatgehalte über die Molybdatmethode mittels UV/Vis-Spektroskopie bestimmt.

Die UV/Vis-Spektroskopie ist eine Methode, bei der Absorptionsspektren von Substanzen im sichtbaren bis ultravioletten Bereich des Lichts erstellt werden können. Die Methode beruht darauf, dass Substanzen durch Absorption von Licht bestimmter Wellenlänge elektronisch angeregt werden. Tritt diese Absorption im sichtbaren Bereich des Lichts ein, so erscheinen diese Substanzen farbig. Das menschliche Auge nimmt dann die Komplementärfarbe des absorbierten Lichts wahr. Qualitativ eignet sich die UV/Vis-Spektroskopie dazu, funktionelle Gruppen an meist organischen Molekülen zu bestimmen. In dieser Arbeit wird die UV/Vis-Spektroskopie quantitativ eingesetzt. Dabei wird in diesem Fall die Absorption eines Farbstoffs über einen bekannten Konzentrationsbereich bestimmt und eine Kalibrationsgerade erstellt. Über diese ist es anschließend möglich, Farbstoffgehalte von Proben unbekannter Konzentration zu quantifizieren.

2.2.9 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) und Elementaranalyse (EA)

Die in dieser Arbeit bestimmten Calcium, Natrium und Silbergehalte wurden mit einem Atomabsorptionsspektrometer der Firma Thermo Electron Corporation M-Serie durchgeführt.

Die Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) ist eine quantitative analytische Methode. Zunächst wird eine Probe in einer Flamme oder in einem Graphitofen atomisiert. Durch Anregung der Elektronen der Atome mit Energie in Form von Licht verschiedener Wellenlängen und bestimmter Intensität, gehen die Elektronen in einen angeregten aber nicht stabilen Zustand über. Bei der Rückkehr der Elektronen

2. Theoretischer Hintergrund

in den Grundzustand geben diese Licht einer bestimmten Wellenlänge und Intensität wieder ab. Ein Detektor misst die Energiedifferenz zwischen ein- und ausgetretenem Licht. Die Energiedifferenz ist proportional zur Konzentration des zu identifizierenden Elements und kann über das Lambert-Beer'sche Gesetz berechnet werden.

Die in dieser Arbeit bestimmten Kohlenstoff-, Stickstoff-, Wasserstoff- und Schwefelgehalte wurden mittels CHNS-Analysen mit einem Analysator EA 1110 der Firma CE Instruments durchgeführt.

Die CHNS-Analyse ist eine Verbrennungsanalyse bei der eine exakt eingewogene Probe in einem Oxidationsreaktor unter reinem Sauerstoff bei hohen Temperaturen (800-900 °C) verbrannt wird. Kohlenstoff wird dabei zu CO oder CO₂ oxidiert, Wasserstoff reagiert zu Wasser und Stickstoff zu Stickoxiden oder molekularem Stickstoff. Diese Verbrennungsprodukte werden mit Hilfe eines Trägergases über einen heißen Kupferoxidkontakt geleitet, wodurch die Stickoxide vollständig zu N₂ reduziert werden. Anschließend werden die Verbrennungsgase (CO₂, H₂O, N₂) gaschromatographisch getrennt, einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor zugeführt und dort quantitativ bestimmt.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Bestimmung der Enthalpieänderung bei der Bildung von Calciumphosphat-Nanopartikeln

3.1.1 Einführung in die Thematik

Das Interesse an Calciumphosphat-Nanopartikeln ist seit Jahrzehnten stetig gewachsen. Besonders in der guten Biokompatibilität des Materials Calciumphosphat liegt dieses Interesse begründet.^[6-8] So bildet Calciumphosphat den anorganischen Teil von Knochen und Zähnen in Form von nanokristallinem Carbonat-Apatit.^[9-13] Gerade die Tatsache, dass das im Knochen vorkommende Calciumphosphat nanokristallin ist, erklärt die intensive Forschung zur Entwicklung von Knochenersatzmaterialien auf der Basis von Calciumphosphat-Nanopartikeln.^[14-18] Diese sind strukturell und chemisch dem Calciumphosphat im menschlichen Knochen sehr ähnlich.^[19] Eine immer populärere werdende Anwendung von Calciumphosphat-Nanopartikeln ist dessen Einsatz als Trägermaterial, z.B. für Antitumor-Wirkstoffe^[20-23] oder Nucleinsäuren.^[24] Beispielsweise können durch mit DNA- und siRNA-funktionalisierte Calciumphosphat-Nanopartikel erfolgreiche Transfektionen von Zellen realisiert werden.^[25-31] Ein weiterer Vorteil liegt in der Möglichkeit, fluoreszierende Calciumphosphat-Nanopartikel durch Lanthanid-dotierung herstellen zu können. Diese modifizierten Partikel können auf ihrem Weg z.B. durch eine Zelle beobachtet werden.^[32-36]

Trotz dieser vielfältigen und überaus wichtigen Anwendungen von unfunktionalisierten und funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln, wurden die energetischen Aspekte zum Verständnis der Reaktionen, die zur Bildung dieser Partikel führen, noch nie systematisch untersucht. Derartige Untersuchungen sind von größter Relevanz in Bezug auf die Entwicklung von Strategien zur Darstellung maßgeschneiderter Calciumphosphat-Nanopartikel für spezifische Anwendungen. Im Rahmen einer Kooperation mit der Universität Lissabon wurden die Standardreaktionsenthalpien zur Bildung von Calciumphosphat-Nanopartikeln in Abhängigkeit des pH-Wertes bestimmt. Dies wurde mit Hilfe der Durchflussskalorimetrie realisiert. Die Durchflussskalorimetrie ist eine etablierte Methode zur Untersuchung der Thermodynamik und Kinetik chemischer Reaktionen^[37-39] und zur Bestimmung von Lösungs-^[40,41] und Mischungsenthalpien.^[42-45] Außerdem können die Bindung von Proteinen an

3. Ergebnisse und Diskussion

Substraten^[46,47] sowie die enzymatische Aktivität^[48-50] beobachtet werden. Zum adäquaten Einsatz der Durchflusskalorimetrie müssen die zu untersuchenden Ereignisse folgende Voraussetzungen erfüllen: Die Reaktionszeit muss im Vergleich zur Verweilzeit der Reaktionslösungen im Kalorimeter kurz sein. Die Reaktionslösungen müssen sich gut ineinander mischen können. Eventuell auftretende Sekundäreffekte müssen kontrollierbar sein oder berechnet werden können. Werden diese Voraussetzungen erfüllt, so bietet die Durchflusskalorimetrie entscheidende Vorteile gegenüber der *batch*-Kalorimetrie.^[41] Zum Beispiel werden durch einen konstanten Durchfluss die zu systematischen Fehlern führenden Adsorptionserscheinungen bei der *batch*-Kalorimetrie vermieden. Außerdem treten keine Verdampfungs- und Kondensationseffekte auf, die bei der *batch*-Kalorimetrie durch die vorhandene Luft über dem Flüssigkeitsspiegel möglich sind. Das in dieser Arbeit verwendete Durchflusskalorimeter wurde durch die Kooperationspartner so modifiziert, dass gegenüber dem Originalaufbau eine zehnfach höhere Genauigkeit erreicht werden konnte.^[51]

3. Ergebnisse und Diskussion

fließt. Die Differenz des Wärmeflusses wird über die Thermosäulen (9), die die Mess- und Referenzzelle mit dem Kühlkörper verbinden, detektiert und als Potentialdifferenz mit einem Agilent 34420A Nanovoltmeter (10) gemessen. Die Reaktionslösungen werden aus Vorratsgefäßen gleichzeitig mit einer Multikanal-Peristaltikpumpe (11) (Ismatec MS-4/12) über zwei Schläuche (12, 13) in die Messzelle gepumpt. Zusätzlich wird über einen weiteren Schlauch (14) die Lösung für die Basislinie in die Referenzzelle gepumpt. Dies geschieht über die gleiche Peristaltikpumpe mit gleicher Geschwindigkeit. Die elektrische Kalibrationsschaltung der Messzelle besteht aus einem $50\ \Omega$ Widerstand, der in einer Vierdraht-Konfiguration mit einem Agilent 34401 A Multimeter und einer Agilent 6611 C Stromversorgung verbunden ist. Neben der Stromversorgung misst dieses Gerät gleichzeitig den Strom der durch die elektrische Kalibrationsschaltung fließt. Das Multimeter ist auch über eine Vierleiter-Konfiguration an einen Präzisionsthermistor (yellow spring, Modell 44001A) gekoppelt. Dieser misst die Temperatur des Kalorimeterblocks. Die Datensammlung und die elektrische Kalibrierung werden über einen Computer mit dem CBCAL 1.0 Programm realisiert.^[52] Bei einem typischen Experiment werden zwei Messkurven aufgenommen: zum einen die elektrische Kalibration und zum anderen die Reaktion der beiden Lösungen. Jede Messkurve besteht aus einer Auftragung der Messdaten der Thermosäulen (Änderung der Stromspannung) gegen die Zeit. Es gibt jeweils eine Anfangs-, Haupt- und Endphase (Abbildung 5).

3. Ergebnisse und Diskussion

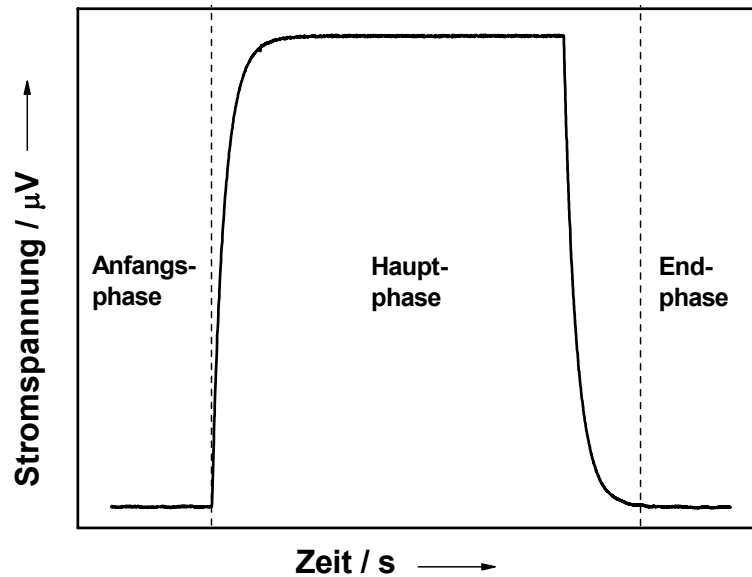


Abbildung 5: Schema einer Messkurve des Durchfluss-Kalorimeters

Bei der elektrischen Kalibration wird ein konstantes Stromspannungspotenzial in Volt (V) durch die Stromquelle erzeugt. Dieser fließt gegen den Widerstand in der Messzelle für t Sekunden, woraus eine Stromstärke (I) in Ampere resultiert. Die während der Hauptphase der Kalibration durch den Joule-Effekt hervorgerufene Wärme Q in der Zelle wird über Gleichung 5 berechnet.

$$Q = \sum_i V_i I_i \Delta t_i \quad \text{Gleichung 5}$$

mit: Q = Wärme

V_i = i. Stromspannung

I_i = i. Stromstärke

Δt_i = Zeitspanne zwischen zwei aufeinanderfolgenden Datenerfassungen

Die Kalibrationskonstante ε ist gegeben durch:

$$\varepsilon = \frac{Q}{A_K} \quad \text{Gleichung 6}$$

mit: A_K = Fläche der entsprechenden Kalibrationsmesskurve

3. Ergebnisse und Diskussion

Die molare Standardreaktionsenthalpie der zu untersuchenden Reaktion wird erhalten durch:

$$\Delta_r H_m^\circ = \varepsilon \frac{A_M}{n} \quad \text{Gleichung 7}$$

mit: ε = Mittelwert der Kalibrationskonstante

A_M = Fläche der entsprechenden Messkurve

n = Stoffmenge der Referenzsubstanz in mol aus der Hauptphase

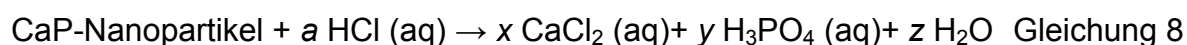
3.1.2.2 Reaktion von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

Die Reaktion von Calciumnitrat mit Diammoniumhydrogenphosphat zu Calciumphosphat-Nanopartikeln wurde zunächst außerhalb des Kalorimeters durchgeführt. Dabei wurden die Reaktionsbedingungen weitestgehend denen im Kalorimeter angepasst. Für die Synthese der Calciumphosphat-Nanopartikel wurden 100 mL einer 0.018 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung mit 100 mL einer 0.0108 M $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung zusammengegeben. Die Konzentrationen wurden so gewählt, dass stöchiometrischer Hydroxylapatit mit einem Ca/P-Verhältnis von 1.67 entstehen konnte. Der pH-Wert der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung (pH_P) wurde für die verschiedenen Experimente durch die Zugabe von festem Natriumhydroxid variiert. Die Reaktionslösung wurde 2 min mit einem Glasstab gerührt. Die gefällten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden durch Vakuumfiltration über einen Membranfilter abfiltriert (Pall Life Science Supor® R-100; 100 nm Porengröße). Die Filtration dauerte ca. 10 min. Die obere und untere Grenze der resultierenden Produktmassen wurden folgendermaßen erhalten: Die obere Grenze der Produktmasse (m_{oG}) wird durch die Massendifferenz des Membranfilters ohne gesammelte Calciumphosphat-Nanopartikel und mit den getrockneten Calciumphosphat-Nanopartikeln auf dem Membranfilter erhalten. Die Trocknung erfolgte für 1-2 Tage an der Luft bei Raumtemperatur. Diese erhaltene Masse ist die obere Grenze der tatsächlichen Masse der Calciumphosphat-Nanopartikel, da nicht das gesamte Wasser in den Proben durch die Trocknung entfernt werden konnte. Die untere Grenze der Produktmasse (m_{uG}) ist die Masse an Calciumphosphat-Nanopartikeln, die durch das Abkratzen der Partikel vom Membranfilter gesammelt werden konnte. Die Partikel wurden 1-2 Tage im Vakuum bei 298 K getrocknet. Da

3. Ergebnisse und Diskussion

es unmöglich war, die Partikel quantitativ von dem Membranfilter abzukratzen, beschreibt m_{UG} die untere Grenze der tatsächlichen Partikelmasse. Die im Vakuum getrockneten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden bezüglich ihrer Zusammensetzung mit Hilfe von Elementaranalytik und Thermogravimetrie (TG) charakterisiert (Tabelle 2). Über die Röntgenpulverdiffraktometrie wurde die Kristallinität der Partikel untersucht. Die Partikelgröße und Partikelform wurden über Rasterelektronenmikroskopie bestimmt.

Zur Durchführung der kalorimetrischen Experimente wurde zunächst frisch hergestellte 0.018 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung mit bekanntem pH-Wert und destilliertes Wasser (Verdünnung 1:1) mit einem Durchfluss von 20 mL h^{-1} durch die Messzelle gepumpt, um eine Basislinie zu erhalten. Die Datensammlung wurde erst nach der Stabilisierung des Kalorimeters, angezeigt durch eine konstante Basislinie, begonnen. Die Einleitung der Reaktion erfolgte durch die Auswechslung des destillierten Wassers gegen die frisch hergestellte 0.0108 M $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung. Wie auch bei den zuvor beschriebenen Experimenten außerhalb des Kalorimeters wurde auch bei den Reaktionen im Kalorimeter der pH-Wert der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung durch die Zugabe von festem NaOH für die verschiedenen Experimente variiert. Die Reaktion wurde durch die erneute Auswechslung der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung gegen destilliertes Wasser gestoppt. Das Signal erreicht so wieder die Basislinie. Die wässrigen Suspensionen der in der Messzelle gefällten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden aufgefangen, und der finale pH-Wert wurde bestimmt (pH_f). Die Menge der durch die Messzelle geflossenen $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung wurde durch den Massenverlust des $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Vorratsgefäßes bestimmt. Die Reinigung der Schläuche und Messzelle wurde nach jedem Experiment durch die Spülung mit 0.1 M Salzsäure realisiert. Die Calciumphosphat-Nanopartikel reagieren nach Gleichung 10 exotherm mit HCl.



Der Wärmefluss während der Reinigung wurde kontrolliert, um die vollständige Entfernung der Calciumphosphat-Nanopartikel zu gewährleisten. Nachdem das Signal die Basislinie erreicht hatte, wurde die Salzsäure gegen destilliertes Wasser ersetzt, um die gesamte Apparatur zu spülen.

3. Ergebnisse und Diskussion

Um den Einfluss der Basislinie auf die gemessenen Enthalpien der Reaktionen zu untersuchen, wurden die Experimente wiederholt. Zum Erhalt einer neuen Basislinie wurden eine 0.0108 M (NH₄)HPO₄-Lösung und destilliertes Wasser bei einem Durchfluss von 20 mL h⁻¹ in die Messzelle gepumpt.

3.1.3 Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der Elementaranalytik und der thermogravimetrischen Analyse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Zusammensetzung der durch die Reaktion von Ca(NO₃)₂ mit (NH₄)₂HPO₄ bei unterschiedlichen NaOH-Konzentrationen in der (NH₄)₂HPO₄-Lösung dargestellten Calciumphosphat-Nanopartikel (sieben repräsentative Experimente).

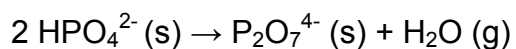
Elementaranalyse						TG	
c NaOH / mM	Ca / %	PO ₄ ³⁻ / %	H / %	Na / %	molares Ca/P- Verhältnis	H ₂ O / %	CO ₂ / %
0	34.25	55.93	0.87	0	1.46	5.61	0.37
4.2	34.69	56.20	0.98	0	1.46	7.55	0.38
7.8	34.87	56.05	0.98	0	1.47	10.19	0.33
11.5	36.67	54.78	1.00	0	1.53	13.66	0.58
19.3	34.60	51.75	1.52	0	1.59	12.78	0.89
33.2	33.14	49.70	1.77	0.25	1.62	14.43	0.86
44.7	33.98	48.32	1.80	0.22	1.67	13.14	1.01

Der CO₂-Gehalt resultiert aus der thermischen Zersetzung des CO₃²⁻-Anteils^[53,54] der Calciumphosphat-Nanopartikel und wurde nach Gleichung 9 umgerechnet:

$$\frac{w(\text{CO}_2)}{M(\text{CO}_2)} \cdot M(\text{CO}_3^{2-}) = w(\text{CO}_3^{2-}) \quad \text{Gleichung 9}$$

Der detektierte Wassergehalt umfasst Kristallwasser^[54] und Wasser durch die Zersetzung von HPO₄²⁻ nach Gleichung 10.^[55]

3. Ergebnisse und Diskussion



Gleichung 10

Die Gesamtmasse der Calciumphosphat-Nanopartikel aus den in Kapitel 3.1.2.2 beschriebenen Experimenten bezüglich m_{UG} und m_{OG} sind in Tabelle 3 in Abhängigkeit von der NaOH-Konzentration bzw. des pH-Wertes der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung (pH_P) dargestellt.

Tabelle 3: Untere (m_{UG}) und obere Grenze (m_{OG}) der Masse der Calciumphosphat-Nanopartikel und die Ca/P-Verhältnisse in Abhängigkeit von der NaOH-Konzentration bzw. des pH-Wertes der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung

[NaOH]/mM	pH_P	m_{UG}/mg	m_{OG}/mg	molares Ca/P-Verhältnis
0	8.047	56.03	74.53	1.46
4.2	8.844	85.41	117.40	1.46
7.8	9.115	111.90	141.63	1.47
11.5	9.439	149.85	190.51	1.53
19.3	10.263	160.78	201.99	1.59
33.2	11.571	162.92	201.50	1.62
44.7	11.973	175.51	209.66	1.67

Bei Erhöhung der NaOH-Konzentration steigt auch das Ca/P-Verhältnis bis hin zu dem für Hydroxylapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) charakteristischen Verhältnis von 1.67. Dies stimmt mit den gewählten Konzentrationen der $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - und $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösungen überein. Abbildung 6 zeigt den Verlauf der Ca/P-Verhältnisse gegen die NaOH-Konzentration.

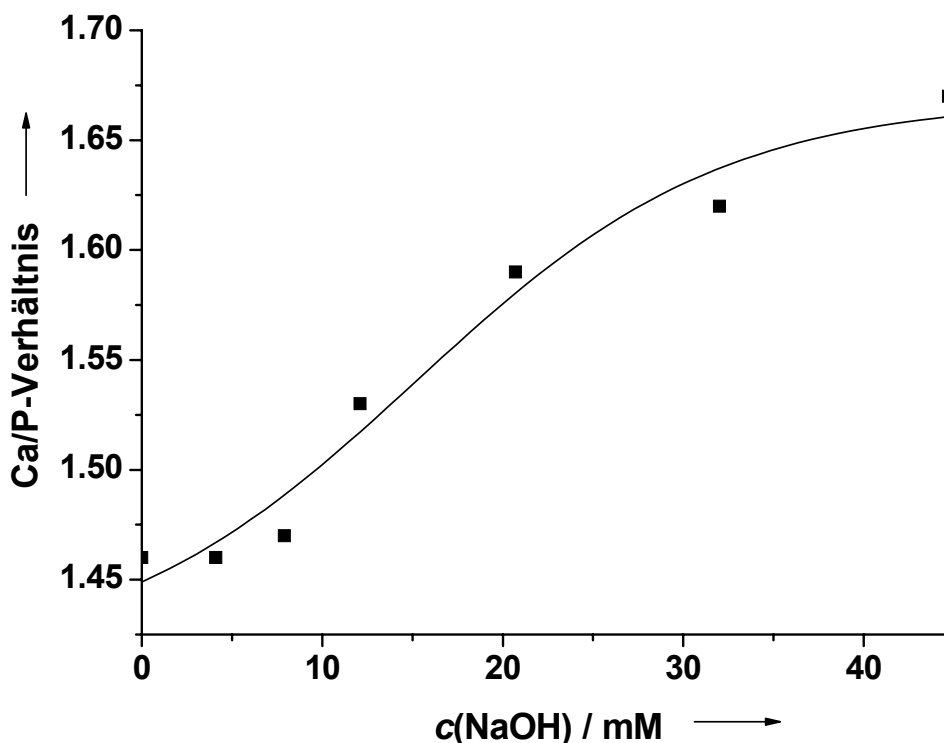
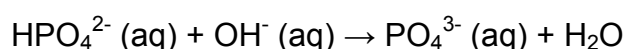


Abbildung 6: Ca/P-Verhältnis der bei der Reaktion von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ erhaltenen Calciumphosphat-Nanopartikel als Funktion der NaOH-Konzentration in der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung

Das Gleichgewicht in Gleichung 11 erklärt die Erhöhung des Ca/P-Verhältnisses. Bei Erhöhung des pH-Wertes wird das Gleichgewicht auf die Produktseite verschoben. Es steht somit mehr PO_4^{3-} anstelle von HPO_4^{2-} für die Reaktion mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ zur Verfügung.



Gleichung 11

Außerdem führt die Erhöhung des pH-Wertes zu einer Erhöhung der Ausbeute an Calciumphosphat-Nanopartikeln. Sowohl m_{uG} als auch m_{oG} werden größer (Tabelle 3). Das heißt, dass sich mit steigendem pH-Wert mehr Calciumphosphat-Nanopartikel bilden, somit folglich mehr Calcium und Phosphor an der Reaktion beteiligt sind. Abbildung 7 zeigt die Massenbrüche ($w(\text{Ca})$ und $w(\text{P})$) der an den Reaktionen beteiligten Ca- und P-Anteile, berechnet nach Gleichung 12 und 13 als Funktion der NaOH-Konzentration.

3. Ergebnisse und Diskussion

$$w(\text{Ca}) = \frac{m(\text{Ca})_f}{m(\text{Ca})_a} \quad \text{Gleichung 12}$$

$$w(\text{P}) = \frac{m(\text{P})_f}{m(\text{P})_a} \quad \text{Gleichung 13}$$

mit: $m(\text{Ca})_a$ und $m(\text{P})_a$ = Massen der Ca- und P-Anteile berechnet aus den eingesetzten Massen an $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

$m(\text{Ca})_f$ und $m(\text{P})_f$ = Massen der Ca- und P-Anteile berechnet aus den Ergebnissen der Elementaranalytik (Tabelle 2) und den erhaltenen Produkten m_{oG} und m_{uG} . (Tabelle 3)

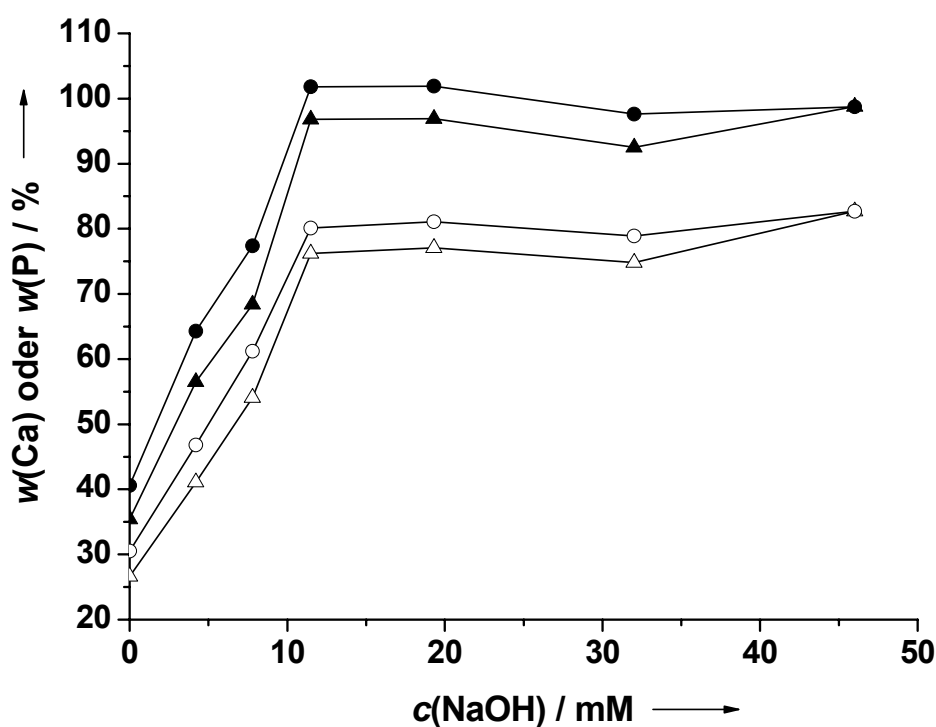


Abbildung 7: Massenbrüche des an der Reaktion beteiligten Ca- ($w(\text{Ca})$) und P-Anteile ($w(\text{P})$) für die Reaktion von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ aufgetragen als Funktion der NaOH-Konzentration; schwarze Kreise: $w(\text{P})$ basierend auf m_{oG} , schwarze Dreiecke: $w(\text{Ca})$ basierend auf m_{oG} , weiße Kreise: $w(\text{P})$ basierend auf m_{uG} , weiße Dreiecke: $w(\text{Ca})$ basierend auf m_{uG} .

In der Abbildung 7 ist zu erkennen, dass die Massenbrüche der P-Anteile stets etwas höher liegen als die der Ca-Anteile. Erst bei Erreichen des Ca/P-Verhältnisses von

3. Ergebnisse und Diskussion

Hydroxylapatit mit 1.67 gleichen sich beide Massenbrüche an. Somit ist für alle Reaktionen $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ das limitierende Edukt. Nur bei der Fällung eines Feststoffes mit apatitischer Stöchiometrie wird der Rest an vorhandenem Ca eingebaut. Außerdem zeigt sich, dass ab einer NaOH-Konzentration von ~11.5 mM (finaler pH-Wert in der Calciumphosphat-Nanopartikel-Suspension $\text{pH}_f=8.2$), die Massenbrüche für die Ca- und P-Anteile annähernd gleich bleiben. Obwohl sich die Ca/P-Verhältnisse und damit die Zusammensetzung der Calciumphosphat-Nanopartikel noch etwas verändern, ist die maximale Ausbeute ab einer eingesetzten NaOH-Konzentration von ~11.5 mM nahezu erreicht.

Die Ergebnisse der kalorimetrischen Messungen sind in Tabelle 4 zusammengefasst. $\Delta_r H_m^\circ$ wurde nach Gleichung 7 berechnet und bezieht sich auf die Stoffmenge des an der Reaktion beteiligten Phosphors $n(\text{P})$. Diese wurde nach Gleichung 14 berechnet.

$$n(\text{P}) = n_i(\text{P}) \cdot w(\text{P}) \quad \text{Gleichung 14}$$

mit: $n_i(\text{P})$ = Stoffmenge des P-Anteils der durch das Durchfluss-Kalorimeter geflossenen $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung
 $w(\text{P})$ = berechnet aus Gleichung 13

Die Stoffmenge $n(\text{P})$ wurde jeweils auf die obere (m_{oG}) und untere Grenze (m_{uG}) der Ausbeute an Calciumphosphat-Nanopartikeln der vorhergegangenen Experimente außerhalb des Kalorimeters bezogen (siehe Kapitel 3.1.2.2). $n(\text{P})_{\text{oG}}$ und $n(\text{P})_{\text{uG}}$ wurden nach Gleichung 14 auf $w(\text{P})_{\text{oG}}$ und $w(\text{P})_{\text{uG}}$ bezogen und berechnet. $w(\text{P})_{\text{oG}}$ und $w(\text{P})_{\text{uG}}$ wurden mit Hilfe der Gleichungen 15 und 16 berechnet.

$$w(\text{P})_{\text{oG}} = 0.4017 + 66.666 \, c(\text{NaOH}) - 2403.3 \, c^2(\text{NaOH}) + 26457 \, c^3(\text{NaOH}) \quad \text{Gleichung 15}$$

$$w(\text{P})_{\text{uG}} = 0.2827 + 61.180 \, c(\text{NaOH}) - 2274.6 \, c^2(\text{NaOH}) + 26083 \, c^3(\text{NaOH}) \quad \text{Gleichung 16}$$

3. Ergebnisse und Diskussion

Gleichung 15 und 16 resultieren aus polynomischen Anpassungen (Polynom 3. Grades nach der Methode der kleinsten Quadrate) der in Abbildung 7 dargestellten Verläufe von $w(P)_{oG}$ und $w(P)_{uG}$. Somit ergaben sich für die Enthalpieänderung jeweils zwei Werte, $\Delta_r H_m^\circ(oG)$ und $\Delta_r H_m^\circ(uG)$. Die Berechnungen der Enthalpieänderungen basieren hierbei auf der Annahme, dass die zuvor durchgeführten Reaktionen von $Ca(NO_3)_2$ mit $(NH_4)_2HPO_4$ außerhalb des Kalorimeters den im Kalorimeter durchgeführten Experimenten entsprechen. Die angegebenen Abweichungen beruhen auf der Durchführung von mindestens zwei Experimenten pro eingesetzte NaOH-Konzentration. Tabelle 4 beinhaltet außerdem die Ergebnisse zweier Versuchsreihen bei denen zum Einen die $Ca(NO_3)_2$ - und zum Anderen die $(NH_4)_2HPO_4$ -Lösung zur Aufnahme der Basislinie verwendet wurden.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 4: Enthalpieänderungen der Reaktionen von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

$c(\text{NaOH})$ / mM	pH_P	pH_Ca	pH_f	$n(\text{P})_\text{oG}$ / μmol	$\Delta_\text{r}H_\text{m}^\circ (\text{oG})$ / $\text{kJ}\cdot(\text{mol P})^{-1}$	$n(\text{P})_\text{uG}$ / μmol	$\Delta_\text{r}H_\text{m}^\circ (\text{uG})$ / $\text{kJ}\cdot(\text{mol P})^{-1}$
<i>Basislinie bezüglich $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}_\text{dest.}$</i>							
0.0	8.017	5.655	6.177	41.7	26.18 ± 0.60	29.3	37.20 ± 0.80
1.2	8.305	5.717		57.2	20.00 ± 0.40	42.2	27.08 ± 0.54
2.0	8.513	5.734	6.361	36.0	16.54 ± 0.33	27.1	21.95 ± 0.44
2.4	8.563	5.642		65.7	13.99 ± 0.18	50.0	18.40 ± 0.24
3.9	8.766	5.672		73.5	8.28 ± 0.14	57.3	10.63 ± 0.18
4.2	8.844	5.826	6.549	40.6	7.83 ± 0.30	31.7	10.01 ± 0.38
5.8	8.953	5.694		83.8	3.01 ± 0.40	66.6	3.78 ± 0.49
6.0	9.044	5.818	6.920	49.6	2.68 ± 0.47	39.5	3.37 ± 0.60
6.8	9.040	5.767	7.379	87.5	0.30 ± 0.10	70.0	0.37 ± 0.12
7.8	9.208	5.627	7.640	98.8	-3.21 ± 0.05	79.4	-3.99 ± 0.06
10.0	9.319	5.609	7.983	105.1	-4.46 ± 0.14	85.2	-5.49 ± 0.17
11.5	9.409	5.700	8.218	110.1	-5.00 ± 0.24	89.6	-6.15 ± 0.30
13.6	9.558	5.799	8.522	127.3	-5.53 ± 0.11	103.9	-6.77 ± 0.14
15.6	9.750	5.813	8.768	125.4	-5.78 ± 0.16	102.5	-7.07 ± 0.20
17.4	9.945	5.787	8.934	132.7	-5.96 ± 0.14	108.5	-7.29 ± 0.17
19.3	10.136	5.871	9.074	135.9	-6.05 ± 0.17	111.0	-7.40 ± 0.21
24.8	11.043	5.561	9.405	120.5	-4.25 ± 0.05	98.2	-5.22 ± 0.06
33.2	11.742	5.656	10.833	140.8	3.22 ± 0.02	114.7	3.95 ± 0.02
38.0		5.610	11.070	110.8	5.75 ± 0.04	91.2	6.98 ± 0.05
44.7		5.646	11.485	121.4	10.41 ± 0.02	103.3	12.22 ± 0.02
<i>Basislinie bezüglich $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + \text{H}_2\text{O}_\text{dest.}$</i>							
0.0	7.903	6.084	5.958	26.3	26.39 ± 0.13	37.3	37.50 ± 0.18
6.3	8.835	5.962	6.562	60.2	1.09 ± 0.00	75.5	1.37 ± 0.00
7.3	8.755	6.029	6.576	56.2	-0.72 ± 0.10	70.1	-0.90 ± 0.12
22.4	10.464	5.876	9.117	75.6	-6.26 ± 0.16	92.7	-7.67 ± 0.19
45.1			11.477	77.9	3.50 ± 0.07	91.3	4.10 ± 0.08

mit: $c(\text{NaOH})$ = Konzentration von NaOH in der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung

pH_P = pH-Wert der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung

pH_Ca = pH-Wert der $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung

pH_f = pH-Wert der finalen Calciumphosphat-Nanopartikel-Suspension

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Trends von $\Delta_r H_m^\circ$ aus Tabelle 4 sind in Abbildung 8 graphisch dargestellt. Dabei sind die Wertepaare $\Delta_r H_m^\circ(\text{oG})$ und $\Delta_r H_m^\circ(\text{uG})$ gegen die NaOH-Konzentration in der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung aufgetragen. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung berechnet durch $\{\Delta_r H_m^\circ(\text{oG}) + \Delta_r H_m^\circ(\text{uG})\} / 2$.

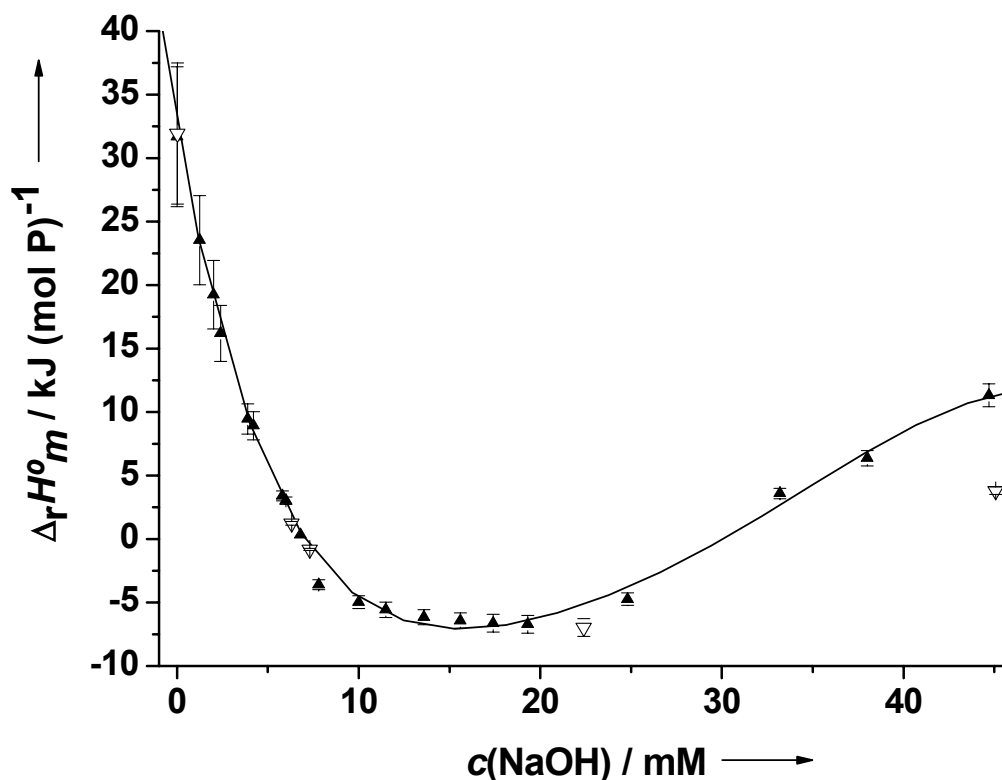


Abbildung 8: Enthalpie der Reaktion von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ als Funktion der NaOH-Konzentration in der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung. Die schwarzen Dreiecke zeigen den Verlauf der Mittelwerte der Wertepaare $\Delta_r H_m^\circ(\text{oG})$ und $\Delta_r H_m^\circ(\text{uG})$ bezogen auf eine $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Basislinie (s.u.). Die weißen Dreiecke zeigen den Verlauf der Mittelwerte der Wertepaare $\Delta_r H_m^\circ(\text{oG})$ und $\Delta_r H_m^\circ(\text{uG})$ bezogen auf eine $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Basislinie (s.u.). Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung berechnet durch $\{\Delta_r H_m^\circ(\text{oG}) + \Delta_r H_m^\circ(\text{uG})\} / 2$.

Der Unterschied zwischen den beiden Kurven wird durch die Art der zuvor aufgenommenen Basislinie hervorgerufen. Die schwarze Linie zeigt den Verlauf der Mittelwerte der Wertepaare $\Delta_r H_m^\circ(\text{oG})$ und $\Delta_r H_m^\circ(\text{uG})$, bezogen auf eine $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Basislinie. Die roten Punkte zeigen den Verlauf der Mittelwerte der Wertepaare $\Delta_r H_m^\circ(\text{oG})$ und $\Delta_r H_m^\circ(\text{uG})$ bezogen auf eine $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Basislinie. Der Grund für den unterschiedlichen Einfluss der Basislinien liegt bei den durch die Verdünnung von $\{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + \text{NaOH}\}$ mit Wasser hervorgerufenen Enthalpie-Effekten. Diese

3. Ergebnisse und Diskussion

treten bei der Verdünnung von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit Wasser nicht auf. Wird die Basislinie durch die Verdünnung von $\{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + \text{NaOH}\}$ mit Wasser aufgenommen, so werden verschiedene Konzentrationen an H_2PO_4^- (aq), HPO_4^{2-} (aq) und PO_4^{3-} (aq) in das Kalorimeter gepumpt. Abbildung 9 zeigt die pH-abhängige Zusammensetzung einer Phosphat-Lösung.

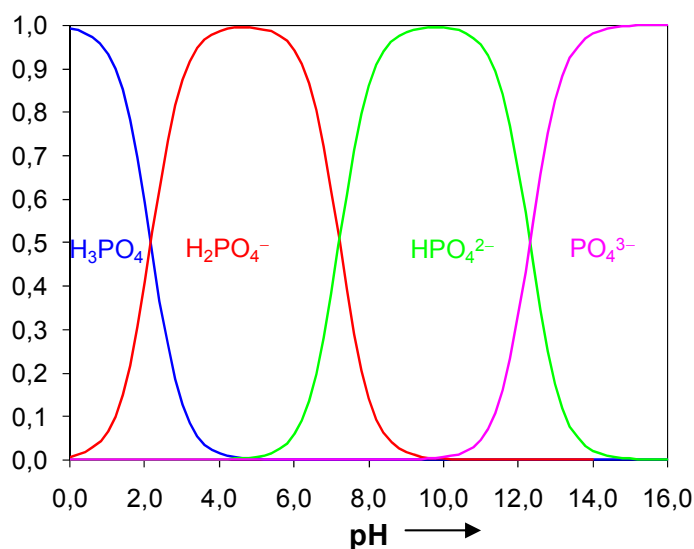


Abbildung 9: Graphische Darstellung der pH-abhängigen Zusammensetzung einer Phosphat-Lösung.

Durch die 1:1-Verdünnung mit Wasser innerhalb des Kalorimeters, ändert sich die Zusammensetzung der Lösung. Dieser Effekt wird mit steigender NaOH-Konzentration in der Lösung deutlicher. Die resultierenden Enthalpie-Effekte können mit den folgenden Gleichgewichtskonstanten und den Standardbildungsenthalpien ($\Delta_f H_m^\circ$) der H_3PO_4 -Dissoziation berechnet werden:

$$\text{pK}_{a1} = 2.16$$

$$\text{pK}_{a2} = 7.21$$

$$\text{pK}_{a3} = 12.32$$

$$\Delta_f H_m^\circ (\text{H}_2\text{PO}_4^-, \text{aq}) = -1296.29 \text{ kJ mol}^{-1}$$

$$\Delta_f H_m^\circ (\text{HPO}_4^{2-}, \text{aq}) = -1292.14 \text{ kJ mol}^{-1}$$

$$\Delta_f H_m^\circ (\text{PO}_4^{3-}, \text{aq}) = -1277.40 \text{ kJ mol}^{-1}$$

3. Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 10 zeigt die Auftragung der berechneten Enthalpieänderungen $\Delta_{\text{dil}}H_m^\circ$ bei der Verdünnung von $\{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4+\text{NaOH}\}$ mit Wasser gegen die NaOH-Konzentration in der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung.

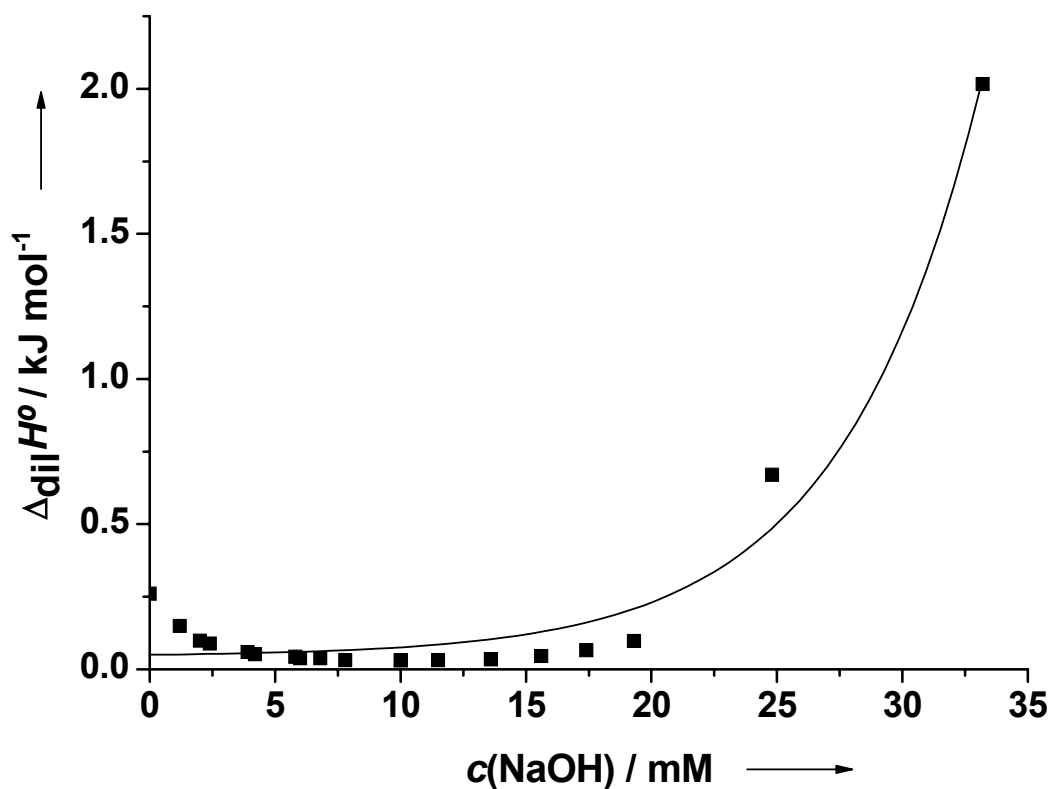


Abbildung 10: Enthalpie der Verdünnung von $\{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4+\text{NaOH}\}$ mit Wasser als Funktion der molaren NaOH-Konzentration in der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung.

Abbildung 10 zeigt, dass bei einer NaOH-Konzentration bis 20 mM die Enthalpieänderung annähernd konstant nahe null ist. Beträgt die NaOH-Konzentration über 20 mM, so steigt $\Delta_{\text{dil}}H_m^\circ$ sprunghaft an. In dieser Beobachtung liegt begründet, dass eine durch die Verdünnung von $\{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4+\text{NaOH}\}$ mit Wasser aufgenommene Basislinie, die experimentell bestimmte Reaktionsenthalpie von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ geringer erscheinen lässt. Dieser Effekt bleibt bei der Messung gegen eine Basislinie, basierend auf der Verdünnung von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, aus. Abbildung 8 spiegelt dies exakt wider. Ab einer NaOH-Konzentration von ca. 20 mM steigt die Reaktionsenthalpie, basierend auf einer $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Basislinie, an. Die Reaktionsenthalpie basierend auf einer $\{(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4+\text{NaOH}\}$ -Basislinie steigt ebenfalls, aber in einem geringeren Maße, an. Die Messkurven in Abbildung 8 zeigen

3. Ergebnisse und Diskussion

beide ein Minimum der Enthalpie bei einer NaOH-Konzentration von ca. 10-20 mM, was einem pH-Wert der resultierenden Calciumphosphat-Partikel-Suspension von ~8-9 entspricht. Es ist nun zu klären, warum die Reaktionsenthalpie erst endotherm ist, dann ein exothermes Minimum durchläuft und schließlich wieder endotherm wird. Es ist davon auszugehen, dass sich mit der Variation des pH-Wertes die Zusammensetzung und/oder die Kristallinität der Calciumphosphat-Nanopartikel verändern. Hierzu wurden die außerhalb des Kalorimeters gefällten Partikel mit Hilfe verschiedener Analysemethoden untersucht. Zunächst wurde die Morphologie der Partikel mit Hilfe von Rasterelektronenmikroskopie betrachtet. Abbildung 11 zeigt vier REM-Aufnahmen der Nanopartikel, die bei vier verschiedenen pH-Werten gefällt wurden.

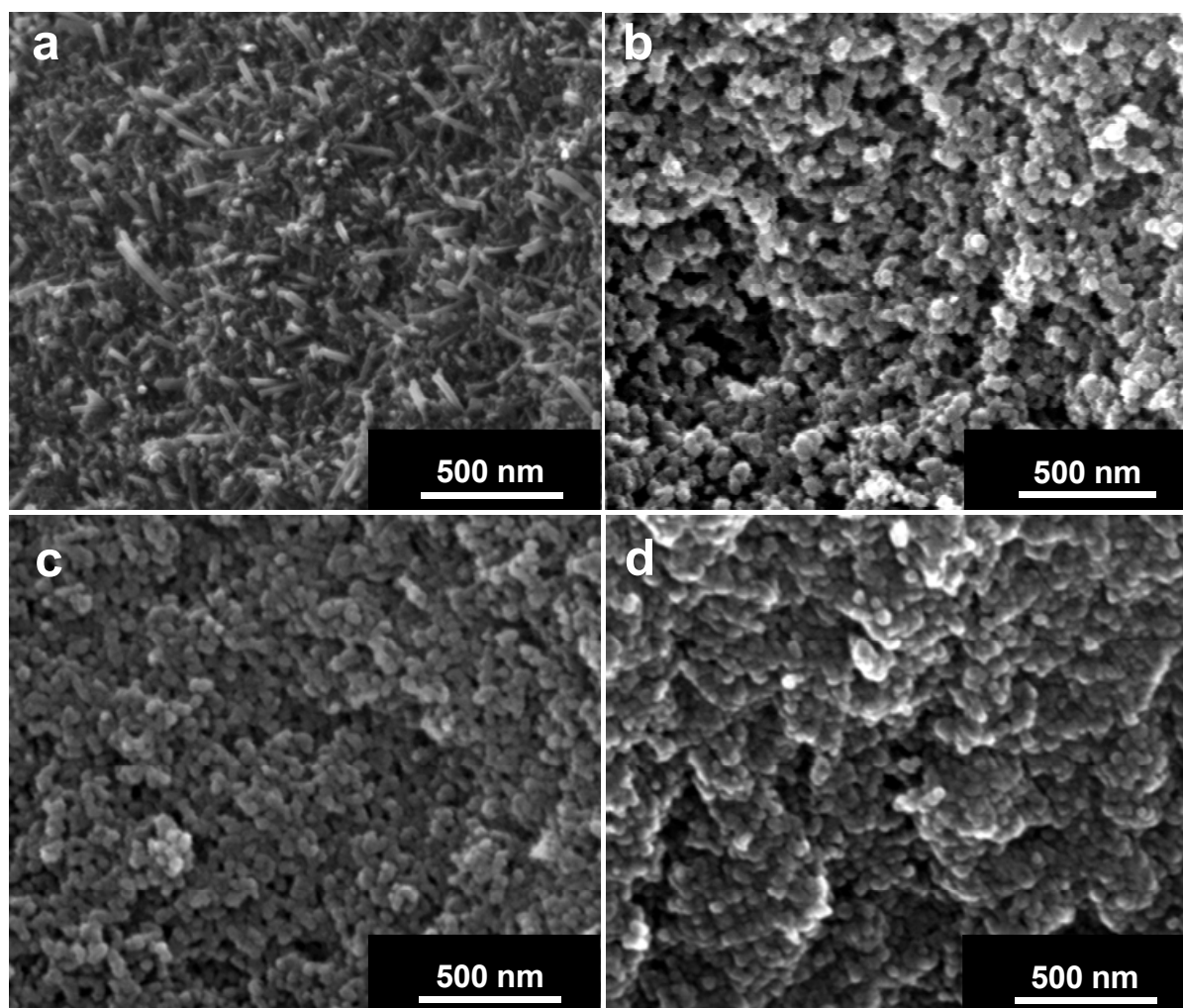


Abbildung 11: REM-Aufnahmen der bei verschiedenen NaOH-Konzentrationen gefällten Calciumphosphat-Nanopartikel; a $c(\text{NaOH}) = 0 \text{ mM}$; b $c(\text{NaOH}) = 11.5 \text{ mM}$, c $c(\text{NaOH}) = 33.2 \text{ mM}$, d $c(\text{NaOH}) = 44.7 \text{ mM}$.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die REM-Bilder zeigen, dass sich die Morphologie der Partikel in Abhängigkeit des pH-Wertes verändert. Ohne Zugabe von NaOH (Abbildung 11a), resultierend in einem pH_f -Wert der Partikelsuspension von 6.2, sind hauptsächlich stäbchenförmige Partikel zu erkennen. Diese zeigen eine Breite von 50 nm und eine Länge von ca. 150-200 nm. Neben den Stäbchen sind aber auch kugelförmige Partikel zu erkennen. Bei der Zugabe von NaOH und einem damit verbundenen Anstieg des pH_f -Wertes auf 6.5 bis 11.5, sind nur noch kugelförmige Partikel zu erkennen. Diese zeigen eine Größe von 50-80 nm. Die Kristallinität der Partikel wurde mit Hilfe der Röntgenpulverdiffraktometrie untersucht. Abbildung 12 zeigt die Diffraktogramme der Calciumphosphat-Nanopartikel bei drei verschiedenen NaOH-Konzentrationen.

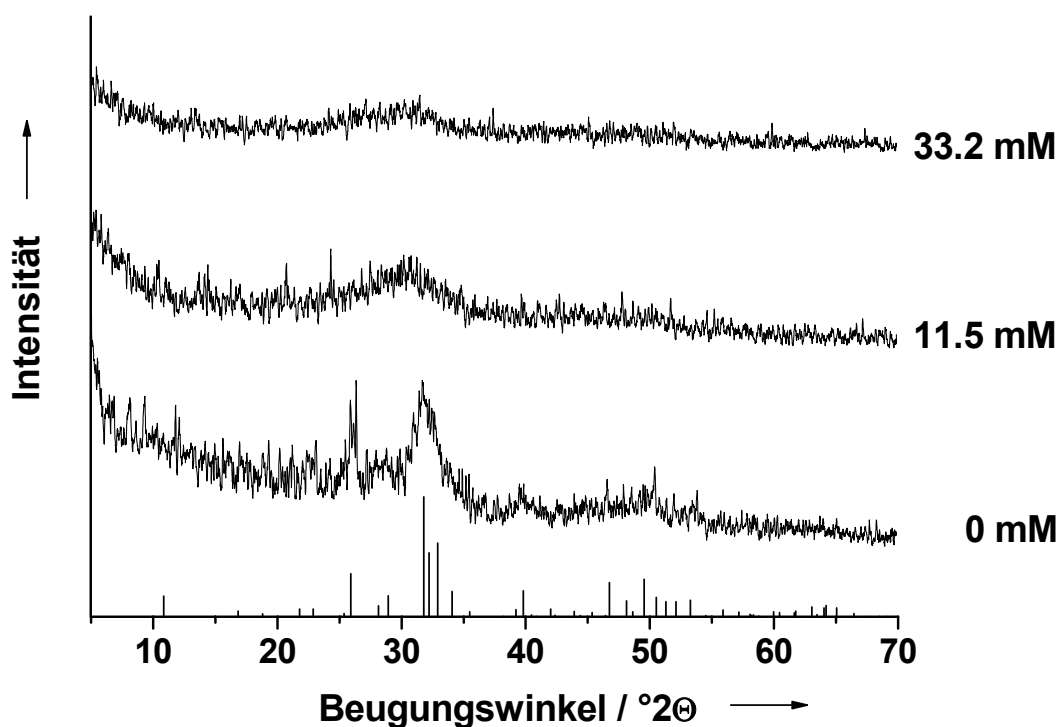


Abbildung 12: Röntgenpulverdiffraktogramme der Calciumphosphat-Nanopartikel, gefällt bei verschiedenen pH-Werten; zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt (ICDD 84-1998).

Die pH_f -Werte entsprechen NaOH-Konzentrationen von 0 mM (pH_f 6.2), 11.5 mM (pH_f 8.2) und 33.2 mM (pH_f 10.8). Somit stellen sie in Abbildung 8 jeweils einen Messpunkt am Maximum ohne zusätzliche NaOH-Zugabe, einen Punkt im Minimum der Kurve und einen Punkt im Bereich der wieder steigenden Kurve dar. Bei niedrigem pH_f -Wert (6.2) zeigt sich, dass die entstehenden Calciumphosphat-Partikel

3. Ergebnisse und Diskussion

nanokristallin sind. Dies bestätigt die Teilchenmorphologie in der entsprechenden REM-Aufnahme 11a, da Hydroxylapatit in kristalliner Form auch Stäbchen bilden kann.^[56] Mit steigendem pH_F-Wert auf 8-9 werden die Partikel zunehmend amorph. Ab einem pH_F-Wert von 9 sind die Partikel gänzlich röntgenamorph. Alle Proben wurden bezüglich ihrer Zusammensetzung thermogravimetrisch und elementaranalytisch untersucht (Tabelle 2). Abbildung 13 zeigt die Thermogramme von sieben bei unterschiedlichen pH-Werten gefällten Calciumphosphat-Nanopartikel-Proben. Der Wasserverlust aller Proben trat in einem Temperaturbereich von ca. 50-450 °C ein. Dieser Masseverlust umfasst Kristallwasser und den größten Teil des aus der in Gleichung 9 beschriebenen Zersetzungsschritt von HPO_4^{2-} resultierenden Wassers.^[54,55,57] Der zweite Zersetzungsschritt bei 450-750 °C zeigt den CO_2 -Verlust der Probe, bedingt durch den CO_3^{2-} -Anteil der Calciumphosphat-Nanopartikel.^[53,54]

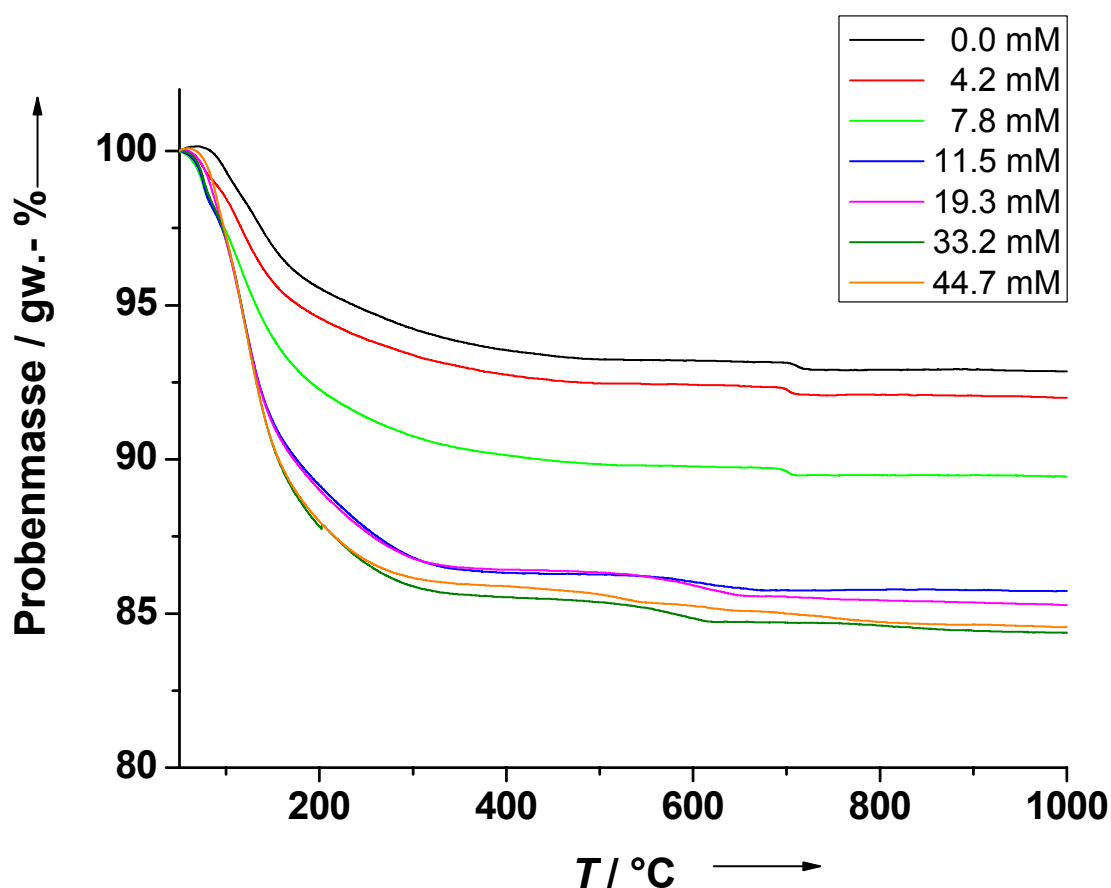


Abbildung 13: Thermogravimetrische Analyse von sieben bei unterschiedlichen pH-Werten gefällten Calciumphosphat-Nanopartikel-Proben in einer Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) und mit einer Heizrate von 3 K min^{-1} .

3. Ergebnisse und Diskussion

Die prozentualen Anteile beider Massenverluste sind in Abbildung 14 gegen die NaOH-Konzentration der entsprechenden Calciumphosphat-Nanopartikel-Suspension aufgetragen.

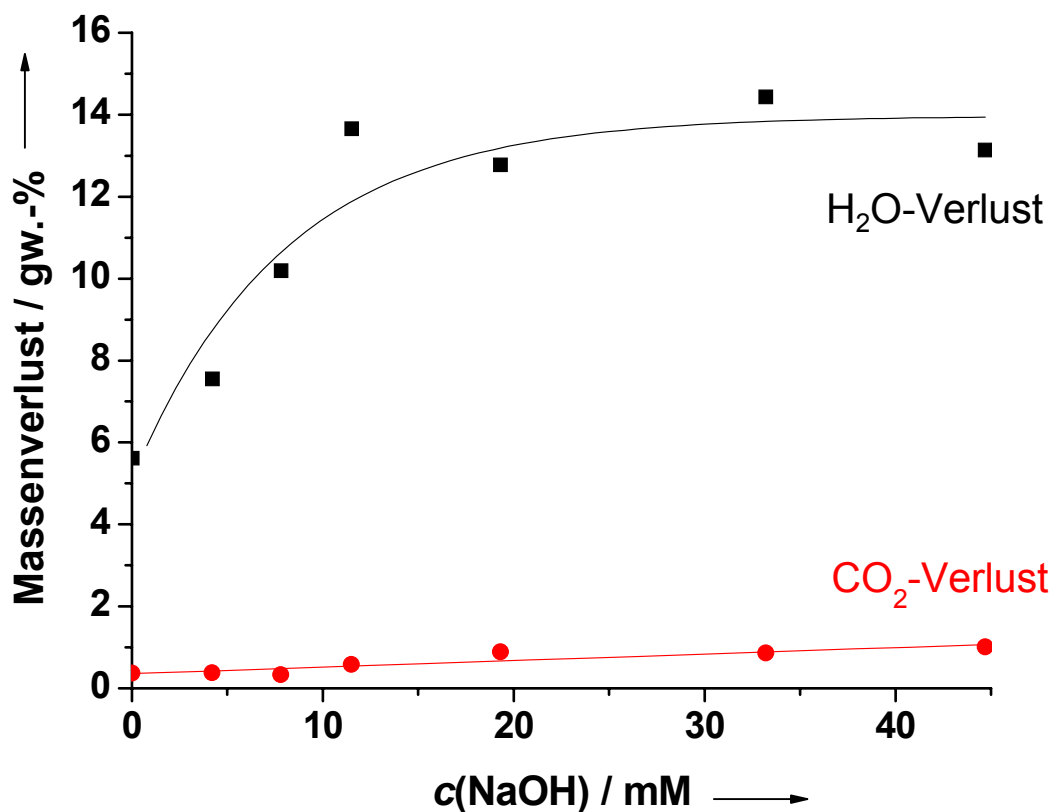


Abbildung 14: Auftragung der prozentualen Massenverluste an CO₂ und H₂O der Calciumphosphat-Nanopartikel in Abhängigkeit von der NaOH-Konzentration.

Es wird deutlich, dass sich mit steigender NaOH-Konzentration in der (NH₄)₂HPO₄-Lösung der Wasser- und der CO₂-Gehalt der Calciumphosphat-Nanopartikel erhöhen. Der höhere Wassergehalt ist auf die Zunahme an Kristallwasser zurückzuführen und scheint gegen einen Grenzwert zu tendieren. Das entstehende Wasser aus der in Gleichung 9 beschriebenen Zersetzungsreaktion von HPO₄²⁻, wird eine geringere Rolle spielen, da mit steigendem pH-Wert der Anteil an HPO₄²⁻ (Abbildung 9) in den Partikeln abnimmt. Die Zunahme an CO₂ wird durch einen höheren CO₃²⁻-Anteil in den Calciumphosphat-Partikeln hervorgerufen. Durch die höhere Basizität der (NH₄)₂HPO₄-Lösung löst sich auch mehr CO₂ aus der Luft in dieser Lösung und beeinflusst so die Zusammensetzung der Calciumphosphat-Nanopartikel. Betrachtet man den Temperaturbereich, in dem die Proben CO₂

3. Ergebnisse und Diskussion

verlieren, so fällt auf, dass sich ab einer NaOH-Konzentration von 11.5 mM die *onset*-Temperatur von ca. 700 °C auf 500-600 °C verschiebt. Die Reaktionsenthalpie der Fällungsreaktion bei einer NaOH-Konzentration von 11.5 mM liegt nahe des Minimums (Abbildung 8). Die Röntgenpulverdiffraktogramme haben ergeben, dass ab dieser eingesetzten NaOH-Konzentration die Partikel zunehmend amorph werden. Es ist plausibel, dass in einem amorphen Verband das CO_3^{2-} lockerer als im kristallinen Verband eingebunden ist, so dass der resultierende CO_2 -Verlust bei niedrigeren Temperaturen eintritt. Die elementaranalytischen Daten der Zusammensetzung der Calciumphosphat-Nanopartikel aus der Reaktion von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Aus diesen Daten lassen sich die Ca/P-Verhältnisse der Nanopartikel in Abhängigkeit der eingesetzten NaOH-Konzentration bestimmen. Mit steigender NaOH-Konzentration steigen auch die molaren Ca/P-Verhältnisse von 1.46 auf für Hydroxylapatit charakteristische 1.67. Außerdem enthalten die Calciumphosphat-Nanopartikel bei den beiden höchsten pH-Werten noch zusätzlich einen geringen Anteil Natrium. Um nun die chemischen Summenformeln der Calciumphosphat-Nanopartikel in Abhängigkeit des pH-Wertes zu berechnen, wurden die Ergebnisse aus der Elementaranalytik für Ca, PO_4^{3-} , H, und Na und der thermogravimetrischen Analyse für CO_2 und H_2O verwendet. Die Berechnung wurde nach folgenden Annahmen und Gleichungen durchgeführt:

- Es wurde die apatitische Stöchiometrie $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ angenommen.
- Die molaren Anteile an PO_4^{3-} und CO_3^{2-} wurden addiert und die Summe als Bezugspunkt gleich 3 gesetzt.
- Die molaren Anteile an OH^- wurden auf 1/3 des $(\text{PO}_4^{3-} + \text{CO}_3^{2-})$ -Anteils gesetzt.
- Die molaren Anteile an Ca^{2+} , $x(\text{Ca})$, wurden nach Gleichung 17 berechnet:

$$x(\text{Ca}) = \frac{n(\text{Ca})}{(n(\text{PO}_4^{3-}) + n(\text{CO}_2)) \cdot 3} \quad \text{Gleichung 17}$$

- Die molaren Anteile an Na^+ , $x(\text{Na})$, (falls vorhanden) wurden nach Gleichung 18 berechnet:

$$x(\text{Na}) = \frac{n(\text{Na})}{(n(\text{PO}_4^{3-}) + n(\text{CO}_2)) \cdot 3} \quad \text{Gleichung 18}$$

3. Ergebnisse und Diskussion

- Die molaren Anteile an H_2O , $x(H_2O)$, setzen sich aus Kristallwasser und aus dem nach Gleichung 9 resultierenden Wasser aus HPO_4^- zusammen. Die molaren Anteile an H_2O wurden nach Gleichung 19 berechnet:

$$x(H_2O) = \frac{n(H_2O)}{(n(PO_4^{3-}) + n(CO_3)) \cdot 3} \quad \text{Gleichung 19}$$

- Die Summe der negativen Ladungen $\epsilon_{neg.}$ wurde nach Gleichung 20 berechnet:

$$\epsilon_{neg.} = 3n(PO_4^{3-}) + 2n(CO_3^{2-}) + 1n(OH^-) \quad \text{Gleichung 20}$$

- Die Summe der positiven Ladungen $\epsilon_{pos.}$ wurde nach Gleichung 21 berechnet:

$$\epsilon_{pos.} = 2n(Ca^{2+}) + 1n(Na^+) \quad \text{Gleichung 21}$$

- Es wurde angenommen, dass die Differenzen in der Ladungsbilanz aus vorhandenem HPO_4^{2-} resultieren.

$$\Delta\epsilon = \epsilon_{neg.} - \epsilon_{pos.} \quad \text{Gleichung 22}$$

- Der Anteil an Kristallwasser wurde basierend auf dem sich aus der Ladungsbilanz ergebenden HPO_4^{2-} -Anteil nach Gleichung 21 berechnet.

$$n(H_2O)_{Krist.} = n(H_2O)_{total} - \frac{n(HPO_4^{2-})}{2} \quad \text{Gleichung 23}$$

Tabelle 5 zeigt die berechneten Summenformeln.

Tabelle 5: Berechnete Summenformeln der bei verschiedenen pH-Werten gefällten Calciumphosphat-Nanopartikel.

c(NaOH)	berechnete Summenformel
0	$Ca_{4.31}(PO_4)_{1.62}(HPO_4)_{1.34}(CO_3)_{0.04}OH \cdot 0.88 H_2O$
4.2	$Ca_{4.41}(PO_4)_{1.81}(HPO_4)_{1.14}(CO_3)_{0.04}OH \cdot 1.57 H_2O$
7.8	$Ca_{4.34}(PO_4)_{1.69}(HPO_4)_{1.27}(CO_3)_{0.04}OH \cdot 2.32 H_2O$
11.5	$Ca_{4.47}(PO_4)_{1.95}(HPO_4)_{0.98}(CO_3)_{0.07}OH \cdot 3.66 H_2O$
19.3	$Ca_{4.58}(PO_4)_{2.17}(HPO_4)_{0.72}(CO_3)_{0.11}OH \cdot 3.56 H_2O$
33.2	$Ca_{4.69}Na_{0.06}(PO_4)_{2.44}(HPO_4)_{0.45}(CO_3)_{0.11}OH \cdot 4.36 H_2O$
44.7	$Ca_{4.56}Na_{0.06}(PO_4)_{2.18}(HPO_4)_{0.68}(CO_3)_{0.13}OH \cdot 3.91 H_2O$

3. Ergebnisse und Diskussion

Die berechneten Formeln spiegeln die zuvor erhaltenen Ergebnisse in sehr guter Übereinstimmung wider. Der Wasser und CO_3^{2-} -Anteil steigt mit zunehmender NaOH-Konzentration, wobei der Wasseranteil ab einer NaOH-Konzentration von 11.5 mM einen Grenzwert erreicht. Der HPO_4^{2-} -Anteil sinkt mit steigender NaOH-Konzentration und in gleichem Maße, wie der PO_4^{3-} -Anteil steigt. Beides tritt bis zu einer NaOH-Konzentration von 19.3 mM ein. Bei Betrachtung des Enthalpieverlaufs in Abbildung 15 kann so die Änderung der Enthalpie von endothermen zu exothermen Werten über die Änderung der molaren Zusammensetzung der Calciumphosphat-Nanopartikel erklärt werden.

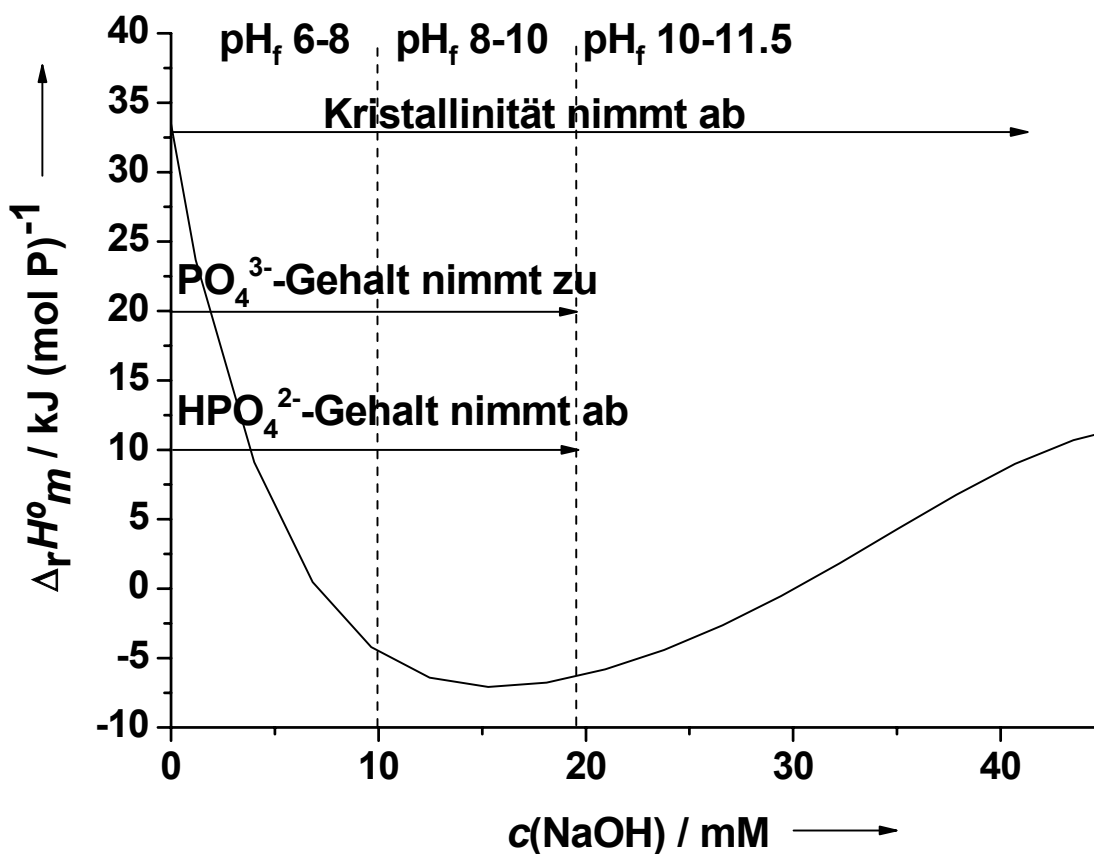


Abbildung 15: pH-abhängiger Verlauf der molaren Standardreaktionsenthalpie zur Bildung von Calciumphosphat-Nanopartikeln; zusätzlich sind die Trends der Kristallinität und der Zusammensetzung der Partikel dargestellt.

Die größere Beteiligung von PO_4^{3-} an der Reaktion, hervorgerufen durch die steigende NaOH-Konzentration, scheint energetisch günstiger für die Reaktion zu sein. Die erneute Änderung der Enthalpie zu endothermen Werten kann im

Gegensatz dazu nicht durch die Änderung der molaren Zusammensetzung der Calciumphosphat-Nanopartikel erklärt werden. Ab der NaOH-Konzentration von 19.3 mM ändert sich diese kaum merklich. Dem gegenüber steht die Kristallinität der Proben. Durch die Bildung von zunehmend amorphem Calciumphosphat ab einer NaOH-Konzentration von 11.5 mM wird der Anteil der freiwerdenden Gitterenergie an der Reaktionsenthalpie reduziert. Der zunächst monotone Verlauf der Kurve in Abbildung 8 geht so in ein Minimum über, in dem sich der Energiegewinn durch die höhere Beteiligung an Phosphat und der Energieverlust durch die geringere Kristallinität ausgleicht. Anschließend überwiegt der Energieverlust durch den Übergang zu gänzlich amorphen Strukturen und die Reaktionsenthalpie wird erneut endotherm. Durch die genaue Betrachtung des Zusammenspiels aller genannten Faktoren, konnte die Standardreaktionsenthalpie zur Bildung von Calciumphosphat-Nanopartikeln in Abhängigkeit des pH-Wertes geklärt werden.

3.1.4 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die in einer Kooperation mit der Universität Lissabon durchgeführte kalorimetrische Bestimmung der Standardreaktionsenthalpie zur Bildung von Calciumphosphat-Nanopartikeln aus $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösungen behandelt. Dabei wurde die Abhängigkeit der Standardreaktionsenthalpie vom pH-Wert der eingesetzten $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösungen untersucht. Der pH-Wert wurde durch die Zugabe definierter Zugaben an festem NaOH variiert. Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, dass der Verlauf der Standardreaktionsenthalpie zur Bildung der Calciumphosphat-Nanopartikel mit steigendem pH-Wert einen parabolischen Charakter mit einem endothermen Start- und Endpunkt und einem Minimum im exothermen Bereich aufweist. Dieser Verlauf konnte durch die Betrachtung der genauen Zusammensetzung und der Kristallinität der Calciumphosphat-Nanopartikel erklärt werden. Auf der einen Seite kommt es durch die Variation der Zusammensetzung der Partikel, genauer durch die höhere Beteiligung von PO_4^{3-} -Ionen anstelle von HPO_4^{2-} -Ionen, zu einem Energiegewinn mit steigendem pH-Wert. Auf der anderen Seite führt ein Verlust der Kristallinität mit steigendem pH-Wert zu einem Energieverlust. Die erhaltenen Ergebnisse sind die ersten ihrer Art bezogen auf die grundlegende Untersuchung der Bildung von Calciumphosphat-Nanopartikeln. Ausblickend können auf der Basis dieser

3. Ergebnisse und Diskussion

Ergebnisse die energetischen Aspekte der Funktionalisierung und Modifizierung von Calciumphosphat-Nanopartikeln auf fundamentaler Ebene studiert werden. Die gezielte Herstellung von auf spezielle Anwendungen maßgeschneiderten Calciumphosphat-Nanopartikeln könnte so realisiert werden.

3.2 Funktionalisierung von Calciumphosphat-Nanopartikeln mit synthetischen und biologischen Polymeren

3.2.1 Einführung in die Thematik

Um Nanopartikel stabilisieren bzw. stabil in Dispersion halten zu können, reichen die in Kapitel 2.2.1 beschriebenen elektrostatischen Wechselwirkungen meist nicht aus. So können Calciumphosphat-Nanopartikel in ihrer nanopartikulären Form nur durch die schnelle Abtrennung des Dispersionsmittels erhalten werden. Die anderenfalls eintretende Umkristallisation zur makroskopischen Phase wird auf diese Weise vermieden. Eine zusätzliche Stabilisierung kolloidaler Systeme kann durch die Zugabe von Polymeren und damit die Funktionalisierung der Partikel erreicht werden. Die wohl ersten geschichtlich festgehaltenen Stabilisierungen dieser Art stammen aus dem Zeitraum um etwa 1000 v. Chr. Zu dieser Zeit benutzten die Chinesen und Ägypter natürlichen Kautschuk zur Herstellung von Tinte.^[58] Erst viel später wurde die Art der stabilisierenden Wirkung von Faraday beschrieben. Der Kautschuk bildet eine Schutzhülle um jedes einzelne Kolloidteilchen und verhindert so die Agglomeration.

Geladene und auch ungeladene Polymere können an Partikeloberflächen adsorbieren. Die so entstehenden Polymerhüllen können sich aufgrund sterischer Abstoßung, im Falle der Polyelektrolyten zusätzlich auch elektrostatischer Wechselwirkung, nicht bzw. kaum durchdringen. Die Partikel können sich so nicht nahe genug kommen, dass die anziehenden Wechselwirkungen auf die Stabilisierung Einfluss nehmen. Da nur bestimmte Polymerkonzentrationen auch tatsächlich eine Stabilisierung bewirken, muss diese genau definiert sein. Abbildung 16 zeigt die möglichen Effekte verschiedener Polymerkonzentrationen. Bei zu geringer Polymerkonzentration kommt es zu so genannter Brücken- oder Überbrückungsflockung. Eine zu hohe Polymerkonzentration bewirkt Verminderungsflockung. Ist die zur sterischen Stabilisierung ausreichende Polymerkonzentration gefunden (Abbildung 16b), können so funktionalisierte Partikel im Gegensatz zu unfunktionalisierten Partikel oft in einer über einen gewissen Zeitraum stabilen Dispersion vorliegen. Zusätzlich zur rein sterischen Stabilisierung bei der Funktionalisierung mit ungeladenen Polymeren, kann durch Einsatz von Polyelektrolyten bei denen jede Monomereinheit eine Ladung trägt, eine elektrosterische Stabilisierung herbeigeführt werden. Diese Kombination aus

3. Ergebnisse und Diskussion

Elektrostatik und sterischer Stabilisierung kann noch stabilere Dispersionen hervorbringen.

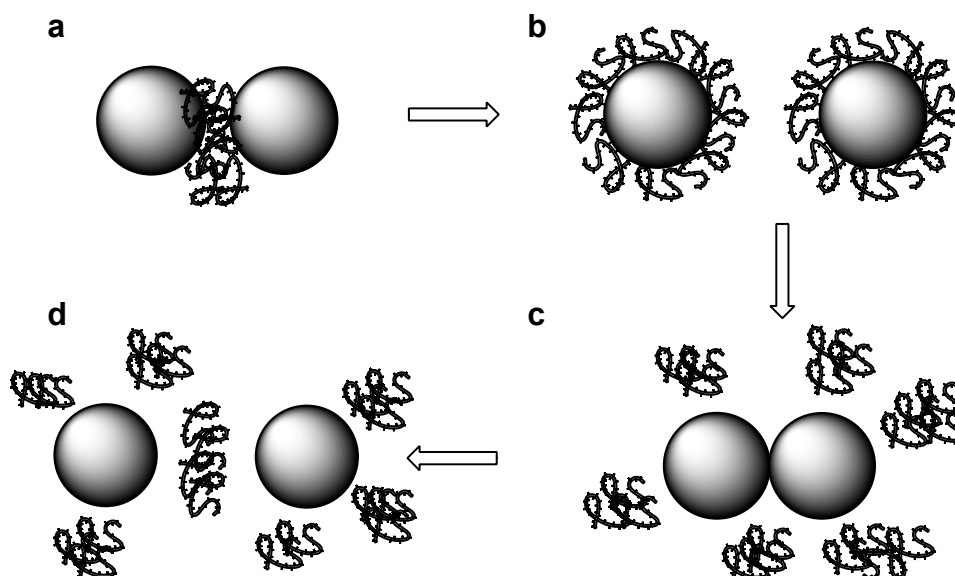


Abbildung 16: Schematische Darstellung der Auswirkungen verschiedener Polymerkonzentrationen auf die Stabilität kolloidaler Systeme: a Brückenflockung bei zu geringer Polymerkonzentration; b sterische Stabilisierung bei ausreichender Polymerkonzentration; c Verminderungsflockung bei höherer Polymerkonzentration; d Verminderungsstabilisierung bei sehr hoher Polymerkonzentration.

Die Funktionalisierung von Nanopartikel ist in der Literatur weit reichend bekannt, so können Silber-^[59] und Goldnanopartikel^[60] durch Polyvinylpyrrolidon (PVP), einem ungeladenem Polymer, stabilisiert werden. Polymethacrylat, ein Polyelektrolyt, kann zur Stabilisierung von Kobaltnanopartikeln^[61] beitragen. Neben den genannten Metallnanopartikeln können mit Polylactat, ebenfalls ein Polyelektrolyt, auch magnetische Eisenoxid-Nanopartikel^[62] stabilisiert werden. Eine derartige Funktionalisierung ist auch für Calciumphosphat-Nanopartikel möglich. So zeigten Urch et al. die Darstellung von Calciumphosphat-Nanopartikeln funktionalisiert mit Polyallylaminhydrochlorid (PAH), Polystyrolsulfonat (PSS), Natriumsalz der Polyacrylsäure (PAA) und Polyvinylpyrrolidon (PVP), wobei die Funktionalisierungen mit PAH, PSS und PAA auch zur Stabilisierung der Partikel in Dispersion führte.^[63,64] Außerdem können Calciumphosphat-Nanopartikel mit Aminosäuren funktionalisiert werden.^[65] Besonders interessant ist die Möglichkeit, Calciumphosphat-Nanopartikel mit

DNA^[26,29,35] oder Oligonukleotiden^[30] funktionalisieren zu können. Mit derart funktionalisierten Partikeln können Zellen erfolgreich transfiziert werden.

Im folgenden Kapitel wird die Stabilisierung von Calciumphosphat-Nanopartikeln mit synthetischen und biologischen Polymeren behandelt. Dabei steht besonders die Charakterisierung dieser Partikel in Bezug auf ihre Zusammensetzung, Größe und Zetapotential im Vordergrund.

3.2.2 Experimenteller Aufbau

Die Darstellung der funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel erfolgte über eine kontinuierliche Fällungsreaktion.^[66] Der schematische Aufbau der Fällungsanlage ist in Abbildung 17 dargestellt. Bei der Fällung wurden eine Calciumlactat-Lösung (18 mM) und eine Diammoniumhydrogenphosphat-Lösung (10.8 mM) über eine Peristaltikpumpe (Pumpengeschwindigkeit 5 mL min⁻¹; hier 10 Umdrehungen min⁻¹) innerhalb von einer Minute unter Rühren in ein Reaktionsgefäß gepumpt. Die Konzentrationen der Lösungen wurden so gewählt, dass stöchiometrischer Hydroxylapatit (Ca₅(PO₄)₃OH) entstehen konnte. Gleichzeitig wurde innerhalb einer Minute ein Polymer zur Funktionalisierung und Stabilisierung über eine weitere Peristaltikpumpe hinzu gegeben. Die Pumpengeschwindigkeit wurde den entsprechenden Volumina der Polymerlösungen (Tabelle 6) angepasst.

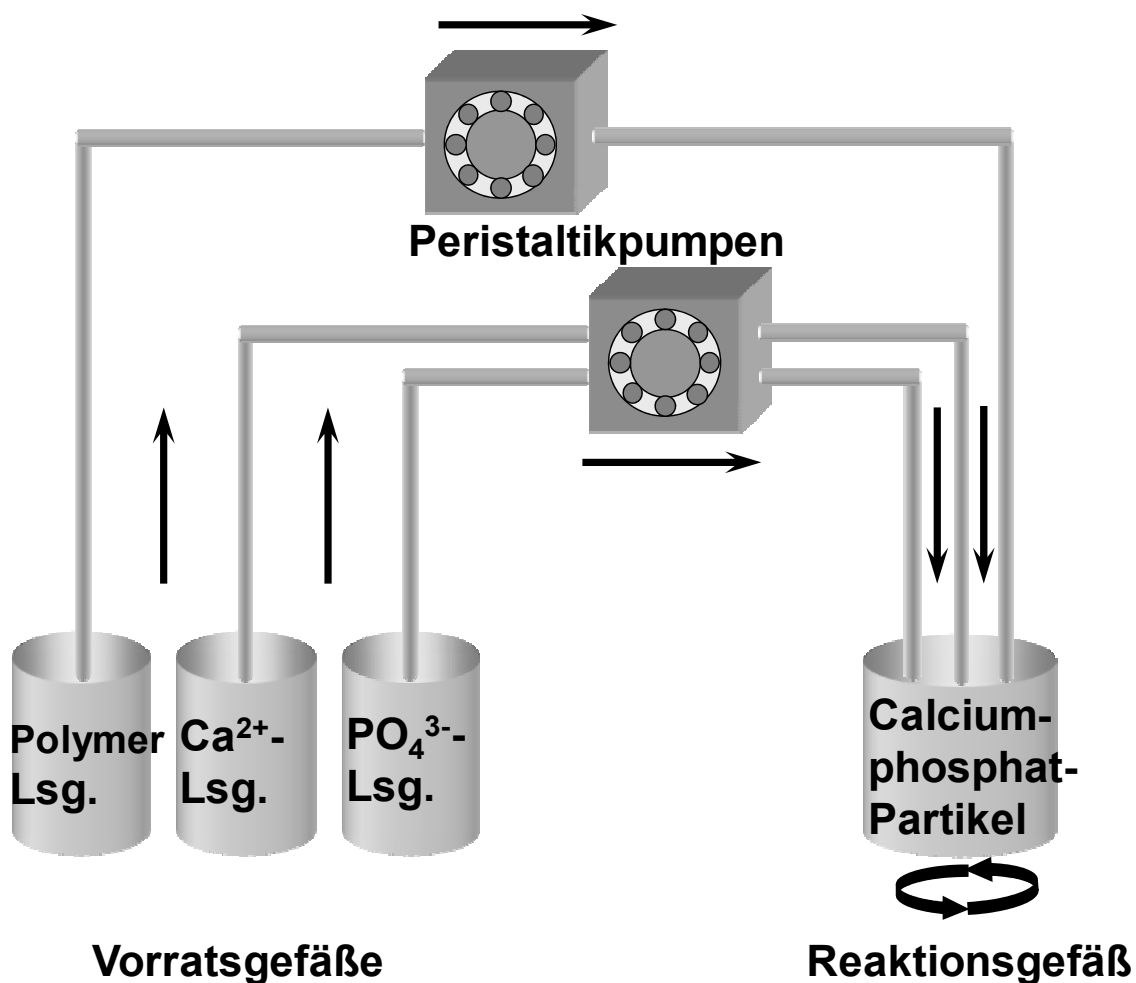


Abbildung 17: Schematischer Aufbau der Fällungsanlage zur Darstellung von Polymer-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln.

Die für diese Arbeit verwendeten Polymere waren Polyelektrolyten, d. h. Polymere, bei denen jede Monomereinheit entweder positiv oder negativ geladen ist. Als synthetische Polymere wurden die beiden Polykationen Polyallylaminhydrochlorid (PAH) und Polyethylenimin (PEI) und das Polyanion Polystyrolsulfonat (PSS) eingesetzt. Als Biopolymere wurden die beiden Polyanionen Carboxymethylcellulose (CMC) und ι-Carrageen (ι-Car) verwendet. Die Strukturformeln der Monomereinheiten der genannten Polymere sind in Abbildung 18 dargestellt.

3. Ergebnisse und Diskussion

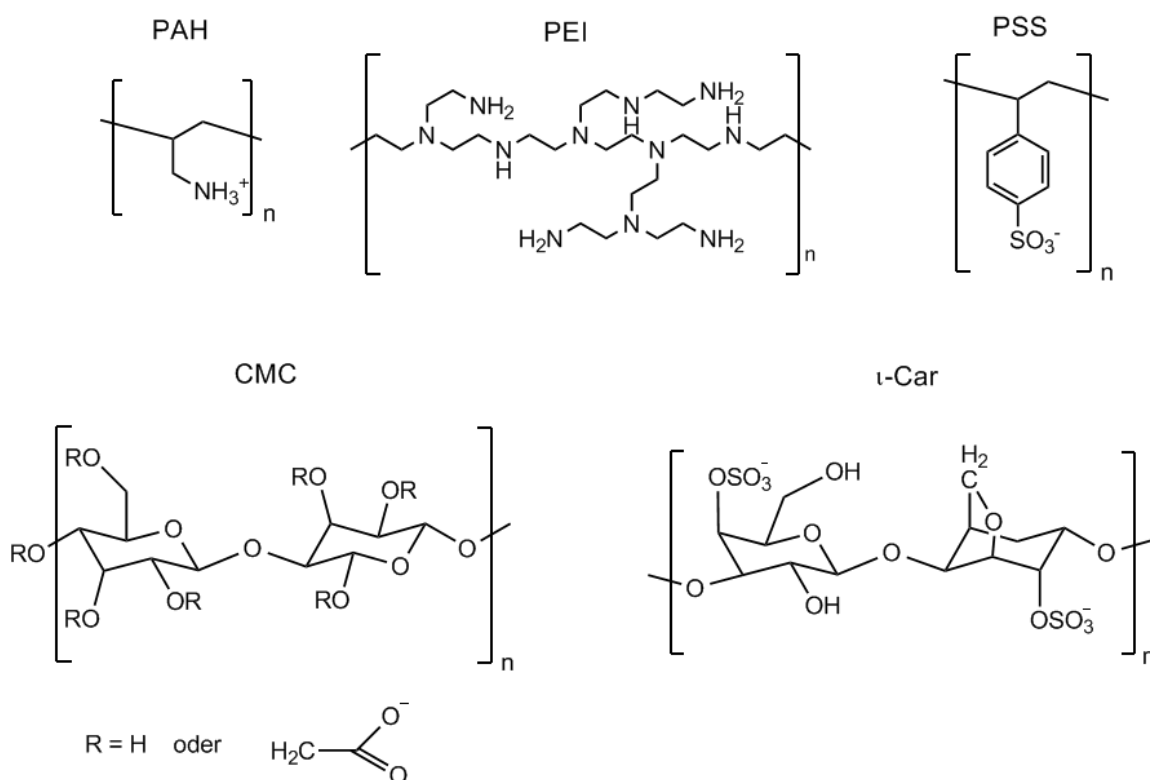


Abbildung 18: Monomereinheiten der verwendeten Polyelektrolyten zur Stabilisierung von Calciumphosphat-Nanopartikeln.

Die genauen Parameter der einzelnen Fällungen mit verschiedenen Polymeren können Tabelle 6 entnommen werden. Dabei wurden jeweils 5 mL der vorher auf pH 10 eingestellten Calcium- (18 mM) und Phosphatlösungen (10.8 mM) pro Ansatz eingesetzt.

Tabelle 6: Versuchsparmeter der der Fällungsreaktionen

Polymer	c(Polymer) [g L ⁻¹]	V(Polymerlsg.) [mL]	Wasservorlage [mL]	pH	Zusatz
PAH	2	5	20	7.5	PAH wird in 0.5 M NaCl gelöst
PSS	2	10	20	10.0	-
PEI	2	7	20	10.4	-
CMC	2	5	20	10.0	-
ι -Car	1	5	-	10.0	-

Die entstandenen Calciumphosphat-Nanopartikel wurden ca. 20 min nach der Fällung mit Hilfe der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) auf ihre Größenverteilung und das Zetapotential hin untersucht. Anschließend wurden die Partikel durch Ultrazentrifugation für 30 min bei 66000 g (30000 U min^{-1}) vom Dispersionsmedium und überschüssigem Polymer getrennt und aufgereinigt. Die Aufreinigung geschah durch zwei alternierend durchgeführte Redispersions- und Zentrifugationsschritte in Reinstwasser. Nach der letzten Zentrifugation wurden die Partikel als Feststoff getrocknet und für weitere Analysen gesammelt. Lediglich die mit PAH und die mit i-Car funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel konnten nicht aufgereinigt werden, da die Redispersion nach der Zentrifugation nicht mehr möglich war.

3.2.3 Ergebnisse und Diskussion

3.2.3.1 Charakterisierung der mit Polyallylaminhydrochlorid funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel

Die wie in Kapitel 3.2.2 beschriebenen dargestellten PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden in Bezug auf ihre Partikelgröße und Oberflächenladung mit Hilfe der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) untersucht. Eine charakteristische Größenverteilung ist in Abbildung 19 dargestellt. Die mittlere Größe der Partikel, der *z-Average*, betrug 118 nm im Durchmesser. An der Verteilungsbreite ist zu erkennen, dass Partikelgrößen zwischen 70 und 200 nm in der Dispersion vorhanden waren. Der Polydispersitätsindex (PDI), der ein Qualitätsfaktor für den *z-Average* ist, lag bei 0.107. Liegt der PDI unter 0.3, so sind die durchgeführte Messung und die mittlere Größenverteilung aussagekräftig. Das Zetapotential betrug $52 \text{ mV} \pm 7 \text{ mV}$, eine deutlich positive Oberflächenladung bedingt durch die Adsorption des Polymers. So funktionalisierte Partikel lagen über mehrere Wochen stabil in Dispersion vor.

3. Ergebnisse und Diskussion

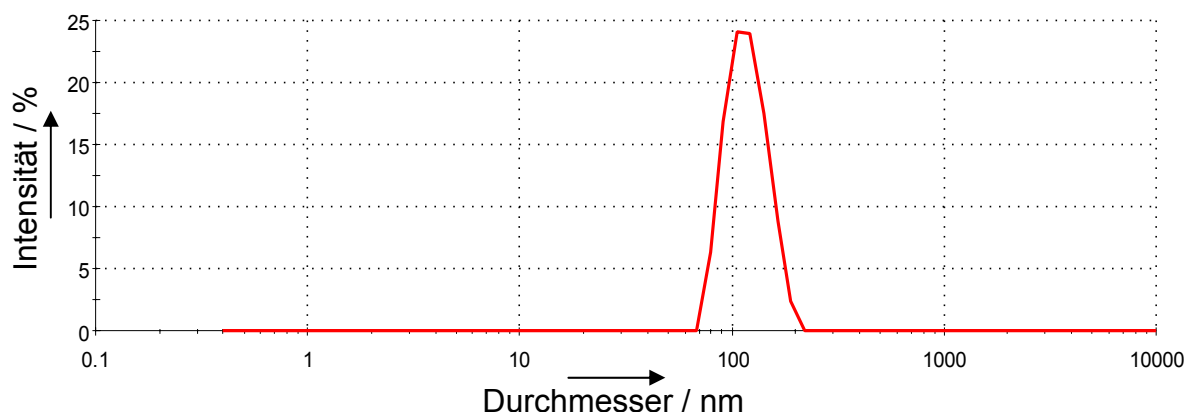


Abbildung 19: Größenverteilung der mit PAH funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel.

Abbildung 20 zeigt Rasterelektronenmikroskopie-Aufnahmen (REM-Aufnahmen) der PAH-funktionalisierten Nanopartikel. Die Größenverteilung der Partikel war schmal und belief sich auf etwa 80 nm. Im Vergleich zur DLS-Messung waren die Partikel im REM kleiner. Dies ist damit zu begründen, dass bei der DLS der hydrodynamische Partikeldurchmesser detektiert wird, welcher größer als der tatsächliche Durchmesser ist. Außerdem ist davon auszugehen, dass das PAH in wässrigem Medium gequollen vorlag, d.h. dass Wassermoleküle in den Polymerschleifen eingelagert sind.^[67] Dies führte zusätzlich zu einem größeren Partikeldurchmesser. Bei der präparationsbedingten Trocknung der Partikel für die Untersuchung im REM, fiel die gequollene Schicht in sich zusammen. Das rechte Bild in Abbildung 20 macht zudem deutlich, warum es, wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben, nicht möglich war, PAH-funktionalisierte Calciumphosphat-Partikel zu redispergieren. Am rechten oberen Bildrand ist klar erkennbar, dass das PAH die Partikel verklebte und somit eine Redispergierung verhinderte.

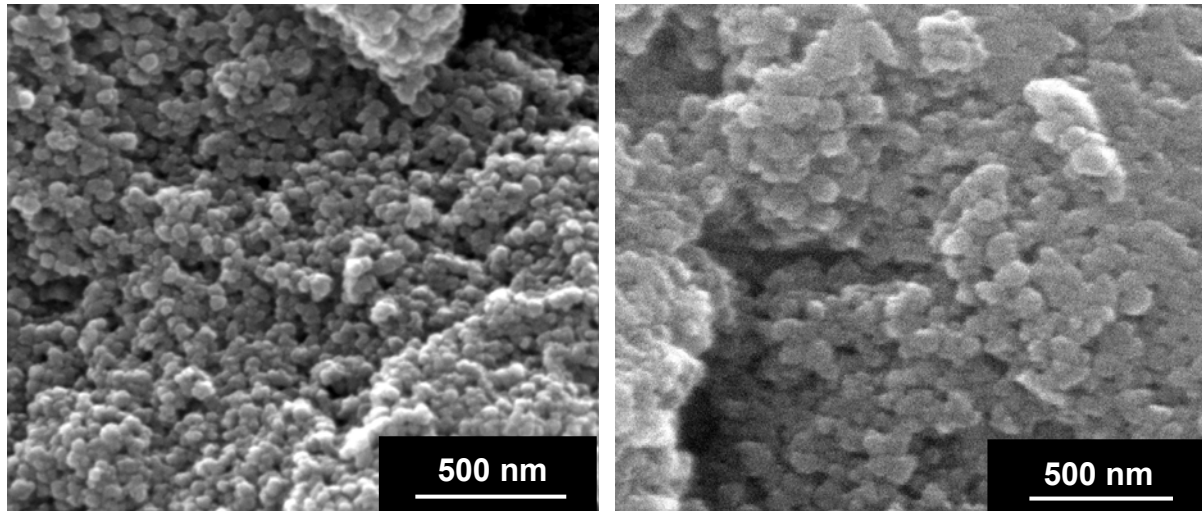


Abbildung 20: REM-Aufnahmen der mit PAH funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel.

Abbildung 21 zeigt ein Röntgenpulverdiffraktogramm der mit PAH funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel. Der amorphe Charakter der Probe ist durch sehr starke Reflexverbreiterung zu erkennen. Zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt. (ICDD 84-1998).

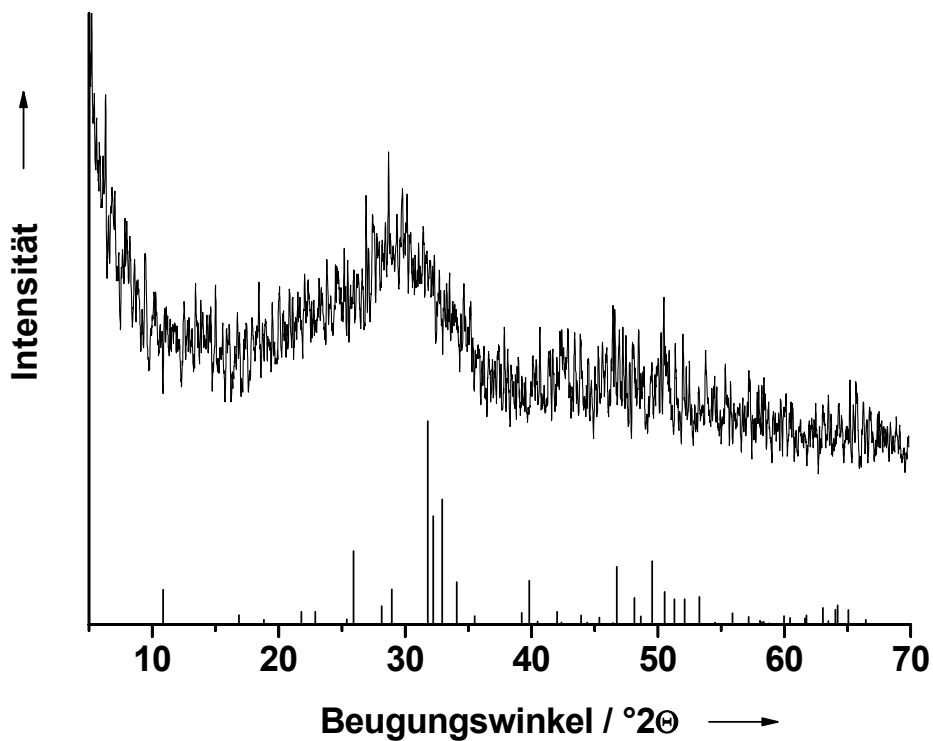


Abbildung 21: XRD der mit PAH funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Zusammensetzung der PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurde über Elementaranalyse und thermogravimetrische Analyse (TGA) bestimmt. Die thermische Zersetzung ist in Abbildung 22 dargestellt.

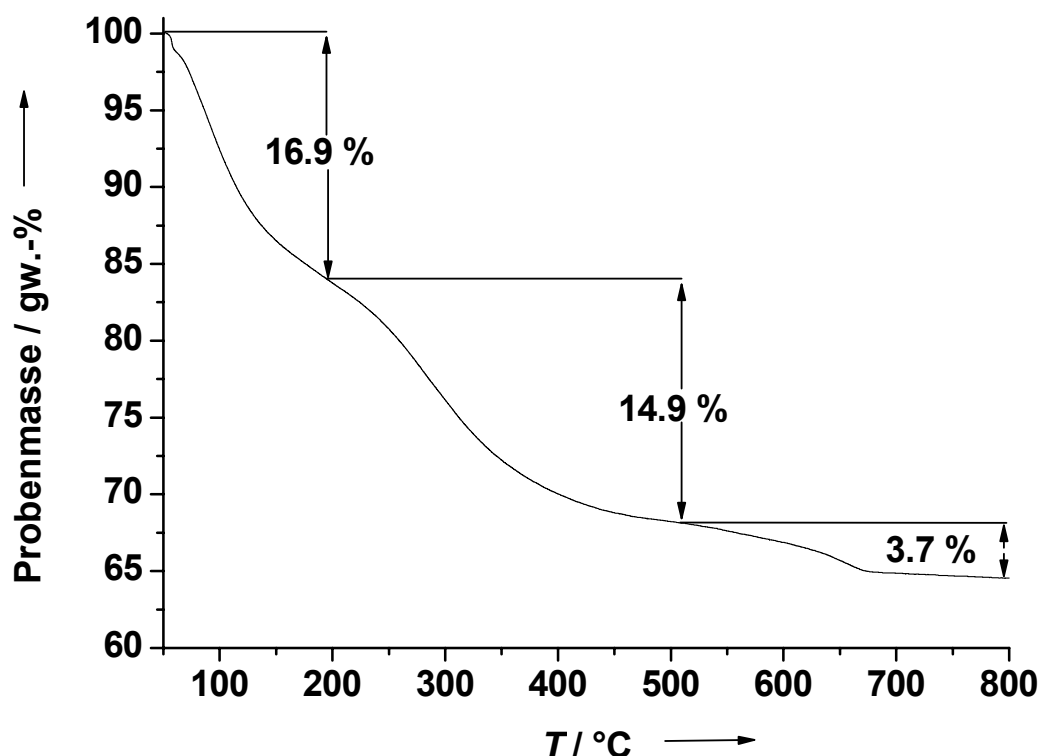


Abbildung 22: TGA der PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel in einer Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) mit einer Heizrate von 1 K min^{-1} .

Die erste Zersetzungsstufe von 16.9 % beschreibt den Wasserverlust der Probe. Der zweite Zersetzungsschritt von 14.9 % umfasst die organische Komponente, demnach den Polymergehalt der Probe. Die dritte und letzte Zersetzungsstufe von 3.7 % beschreibt den CO_2 -Verlust der Probe. Folglich muss die mineralische Phase der Probe (nach Gleichung 9) 5.1 % Carbonat enthalten. Bei Korrelation dieser Ergebnisse mit den Ergebnissen aus der Elementaranalyse ist eine gute Übereinstimmung festzustellen. Aus dem erhaltenen Kohlenstoffanteil der Probe lässt sich nach Abzug des aus der TGA erhaltenen Carbonat-Kohlenstoffs ein Polymergehalt von 14.7 % berechnen. Dieser entspricht im Rahmen der Fehlervarianz dem Ergebnis der TGA. Der Gehalt an Calciumphosphat betrug laut TG 68.1 %. Das Ca/P-Verhältnis betrug 1.31.

3.2.3.2 Charakterisierung der mit Polystyrolsulfonat funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel

Die wie in Kapitel 3.2.2 beschriebenen dargestellten PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden in Bezug auf ihre Partikelgröße und Oberflächenladung mit Hilfe der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) untersucht. Die charakteristische Größenverteilung vor und nach der Aufreinigung über Ultrazentrifugation und Redispersion in Reinstwasser ist in Abbildung 23 dargestellt. Der *z-Average* für die Partikel vor der Aufreinigung betrug 110 nm und nach der Aufreinigung 130 nm im Durchmesser. Außerdem war nach der Aufreinigung zusätzlich ein Agglomeratpeak zu erkennen. Die Vergrößerung der Partikel und die Agglomeratbildung sind durch die Ultrazentrifugation zu erklären. Durch die enormen Kräfte, die auf die Partikel durch die Ultrazentrifugation wirken, können sich die Partikel so nahe kommen, dass die anziehenden Wechselwirkungen wirksam werden. Diese können durch die Redispersion nicht mehr aufgehoben werden. Es kommt so zu Agglomeraten bzw. zur Umkristallisation der Partikel zur makroskopischen Phase. An den Verteilungsbreiten ist zu erkennen, dass in beiden Fällen Partikelgrößen zwischen 50 und 400 nm in den Ansätzen vorhanden waren. Der PDI für die Partikel vor der Reinigung lag bei 0.107, nach der Reinigung bei 0.235, hervorgerufen durch den Agglomeratpeak. Das Zetapotential betrug $-41 \text{ mV} \pm 6 \text{ mV}$, eine stark negative Oberflächenladung bedingt durch die Adsorption des PSS. Nach der Aufreinigung betrug das Zetapotential nur noch $-23 \text{ mV} \pm 5 \text{ mV}$. Dennoch war die Dispersion über Wochen stabil, sodass von einer elektrosterischen Stabilisierung ausgegangen werden kann.

3. Ergebnisse und Diskussion

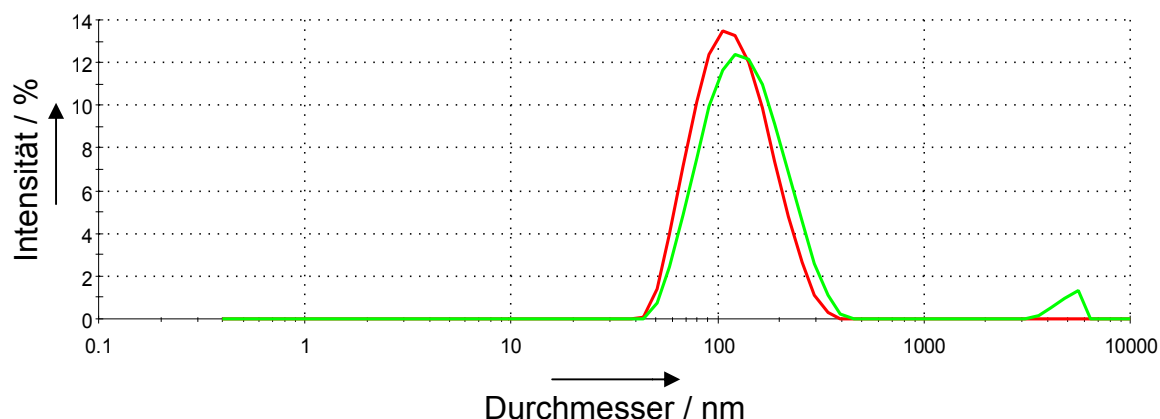


Abbildung 23: Größenverteilung der PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; rot: vor der Aufreinigung, grün: nach der Aufreinigung.

Die REM-Aufnahmen (Abbildung 24) zeigen analog zu den PAH-funktionalisierten Partikeln (Kap. 3.2.3.1) ebenfalls deutlich kleinere Partikel (50-80 nm im Durchmesser) als bei der DLS gemessen wurden. Die Begründung sind wiederum der bei der DLS gemessene hydrodynamische Durchmesser und die Quellung der Polymerschicht in wässrigem Medium.

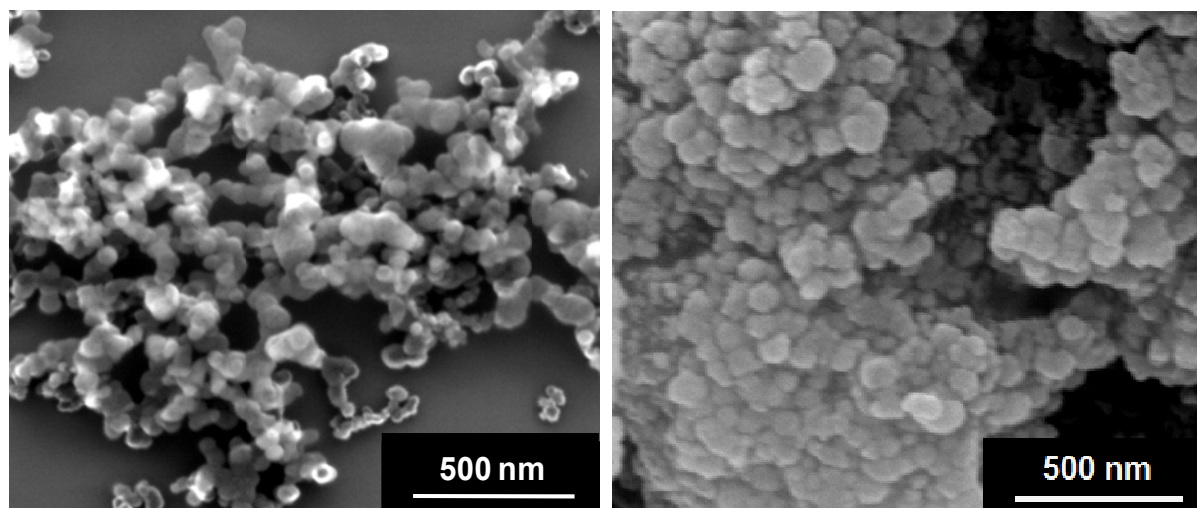


Abbildung 24: REM-Aufnahmen der aufgereinigten PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel.

Abbildung 25 zeigt ein Röntgenpulverdiffraktogramm der PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel. Im Gegensatz zu den PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln zeigte sich hier, dass die Partikel nicht vollständig

3. Ergebnisse und Diskussion

amorph, sondern nanokristallin waren. Ein Vergleich mit den zusätzlich dargestellten berechneten Hydroxylapatit-Reflexlagen zeigt, dass es sich bei den Partikeln um nanokristallinen Hydroxylapatit handelte.

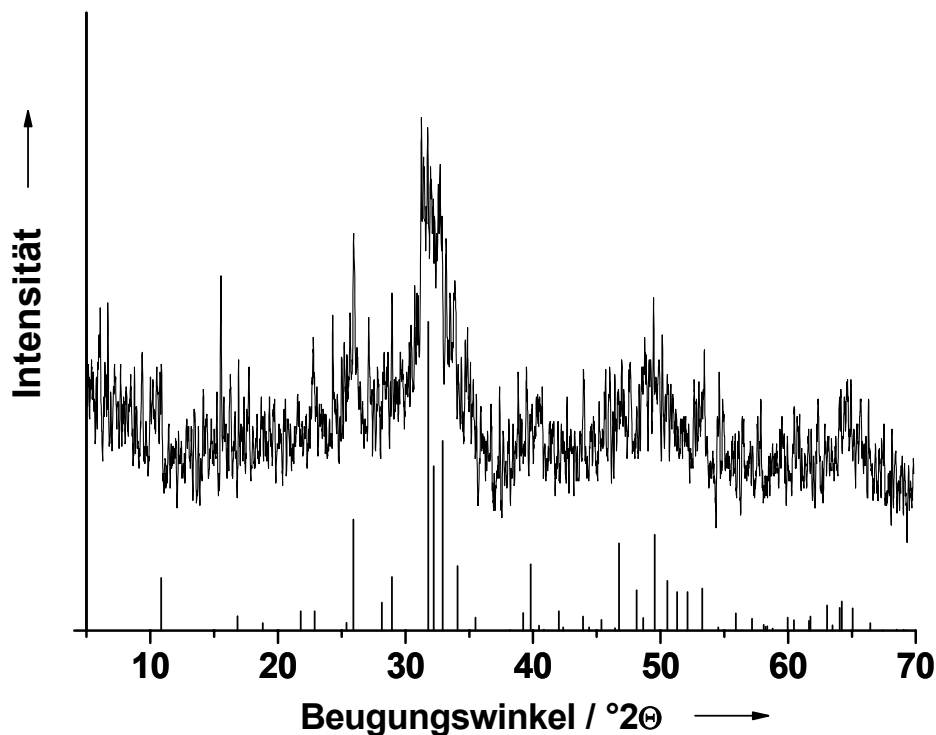


Abbildung 25: XRD der PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt.

Die Zusammensetzung der PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurde über Elementaranalyse und Thermogravimetrische Analyse (TGA) bestimmt. Die thermische Zersetzung ist in Abbildung 26 dargestellt.

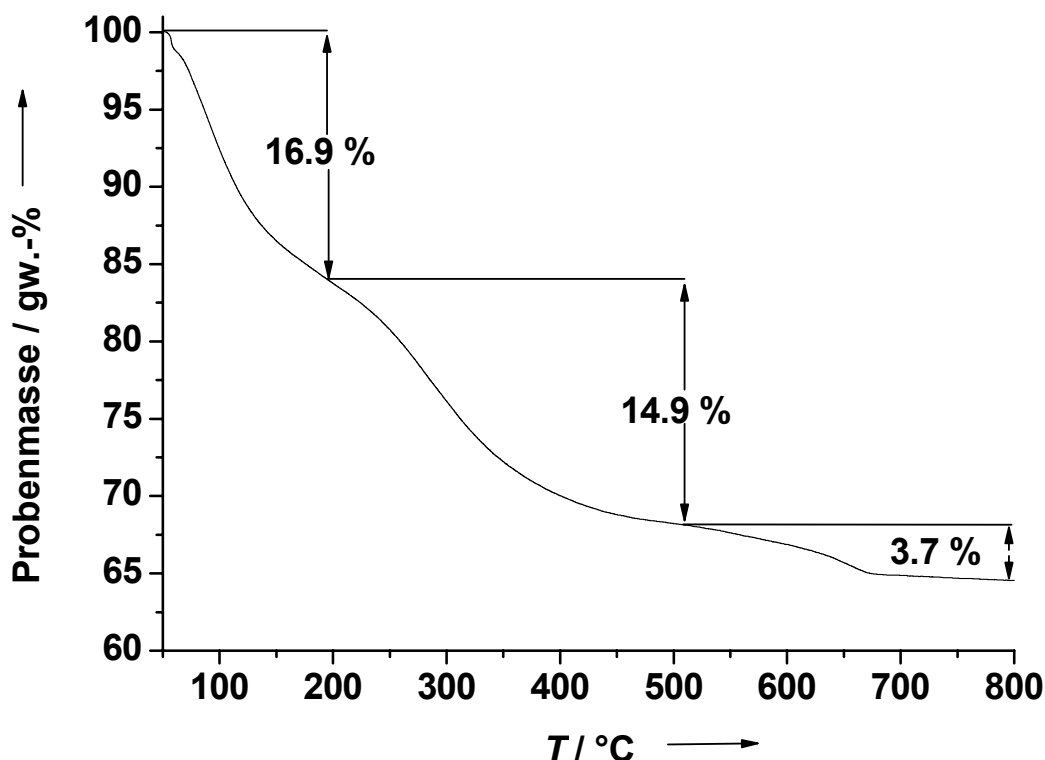


Abbildung 26: TGA der PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel in einer Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) und mit einer Heizrate von 1 K min^{-1} .

Die erste Zersetzungsstufe von 11.5 % beschreibt den Wasserverlust der Probe. Der zweite Zersetzungsschritt von 15.9 % umfasst den Abbrand des organischen Anteils, demnach den Polymergehalt der Probe. Die dritte und letzte Zersetzungsstufe von 0.6 % beschreibt den CO_2 -Verlust der Probe. Folglich muss die mineralische Phase der Probe 0.8 % Carbonat enthalten. Bei der Korrelation dieser Ergebnisse mit den Ergebnissen aus der Elementaranalyse, ist eine relativ gute Übereinstimmung zu erkennen. Der Polymeranteil betrug laut Elementaranalytik 16.0 %. Der Anteil an Calciumphosphat betrug laut TG 72.6 %. Das Ca/P-Verhältnis betrug 1.79. Dieses Verhältnis liegt etwas über dem von stöchiometrischem Hydroxylapatit mit 1.67. Dies ist durch die aus dem Pulverdiffraktogramm (Abbildung 25) ersichtlichen amorphen Anteile im Hydroxylapatit zu erklären. Amorphes Calciumphosphat kann ein Ca/P-Verhältnis von bis zu 2.5 erreichen.^[13]

3.2.3.3 Charakterisierung der mit verzweigtem Polyethylenimin funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel

PEI wird wie in der Literatur vielfach beschrieben bereits für Beschichtungen und Einsätze mit zellbiologischem Hintergrund verwendet.^[8] Die wie in Kapitel 3.2.2 beschriebenen dargestellten PEI-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden in Bezug auf ihre Partikelgröße und Oberflächenladung mit Hilfe der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) untersucht. Die charakteristische Größenverteilung vor und nach der Aufreinigung über Ultrazentrifugation und Redisperion in Reinstwasser ist in Abbildung 27 dargestellt. Der *z-Average* für die Partikel betrug vor der Aufreinigung 120 nm im Durchmesser und nach der Aufreinigung 150 nm. Der PDI für die Partikel vor der Reinigung lag bei 0.093, nach der Reinigung bei 0.095. Das Zetapotential betrug vor der Aufreinigung $36 \text{ mV} \pm 10 \text{ mV}$ und nach der Aufreinigung $27 \text{ mV} \pm 7 \text{ mV}$.

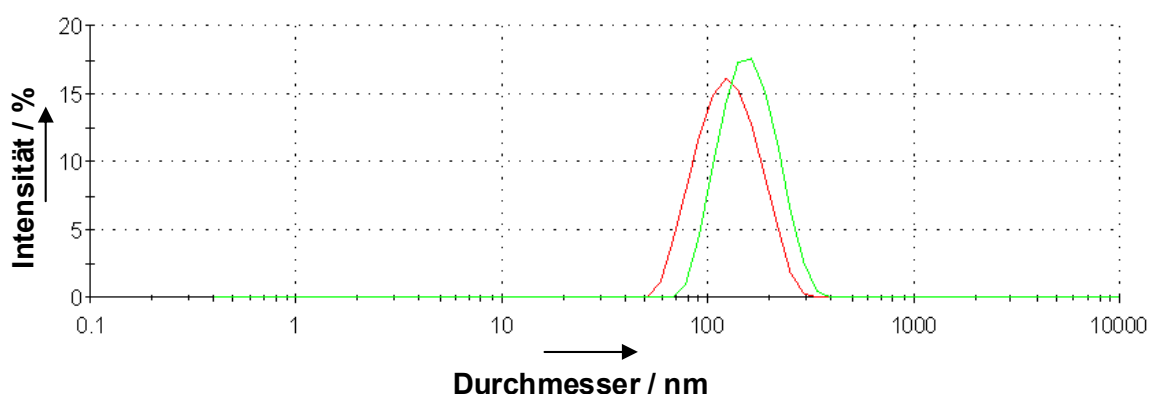


Abbildung 27: Größenverteilung der PEI-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; rot: vor der Aufreinigung, grün: nach der Aufreinigung.

Die REM-Aufnahmen (Abbildung 28) zeigen wieder deutlich kleinere Partikel als bei der DLS gemessen wurden. Begründung sind erneut der bei der DLS gemessene hydrodynamische Durchmesser und die Quellung der Polymerschicht in wässrigem Medium. Außerdem fällt auf, dass der Polymeranteil recht hoch war, obwohl die Partikel aufgereinigt wurden.

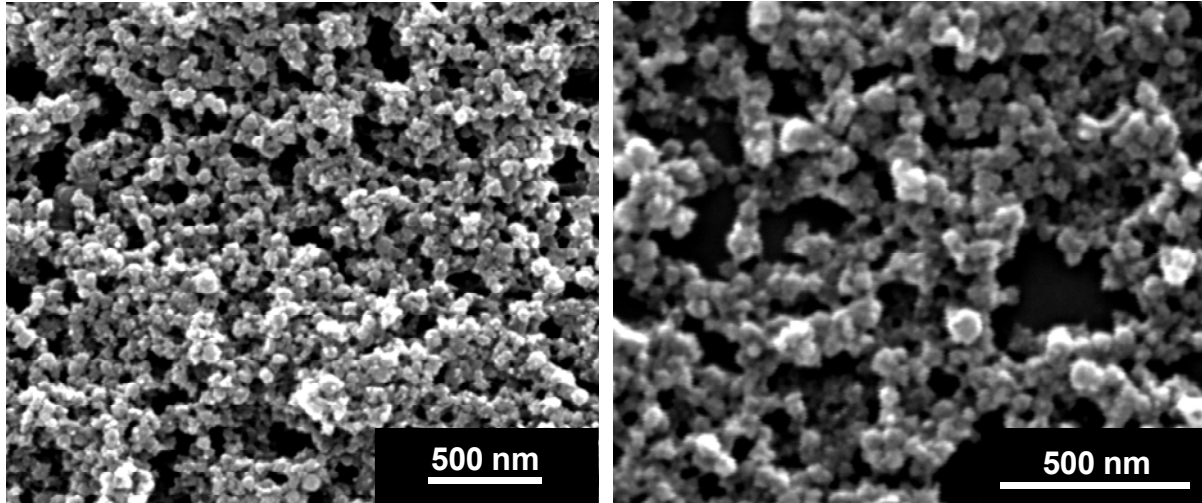


Abbildung 28: REM-Aufnahmen der aufgereinigten PEI-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel.

Abbildung 29 zeigt ein Röntgenpulverdiffraktogramm der PEI-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel. Im Vergleich mit den PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln zeigte sich hier ebenfalls, dass die Partikel nicht vollständig amorph, sondern nanokristallin waren. Ein Vergleich mit den zusätzlich dargestellten, berechneten Hydroxylapatit-Reflexlagen zeigt, dass es sich bei den Partikeln um nanokristallinen Hydroxylapatit handelt.

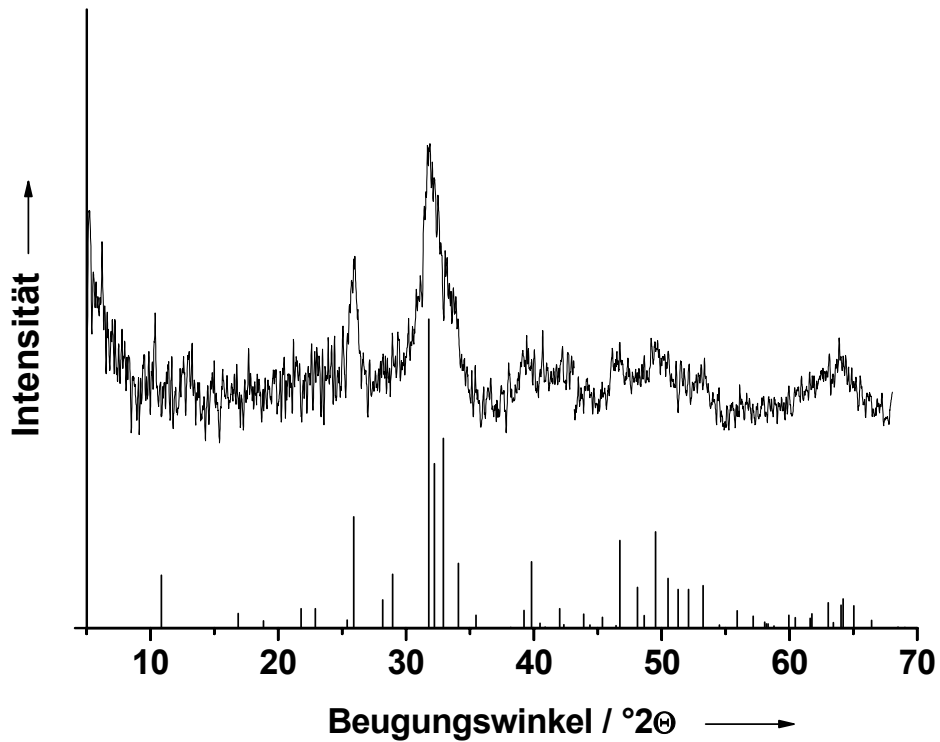


Abbildung 29: XRD der PEI-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt.

Die Zusammensetzung der PEI-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurde über Elementaranalyse und thermogravimetrische Analyse bestimmt. Die thermische Zersetzung ist in Abbildung 30 dargestellt.

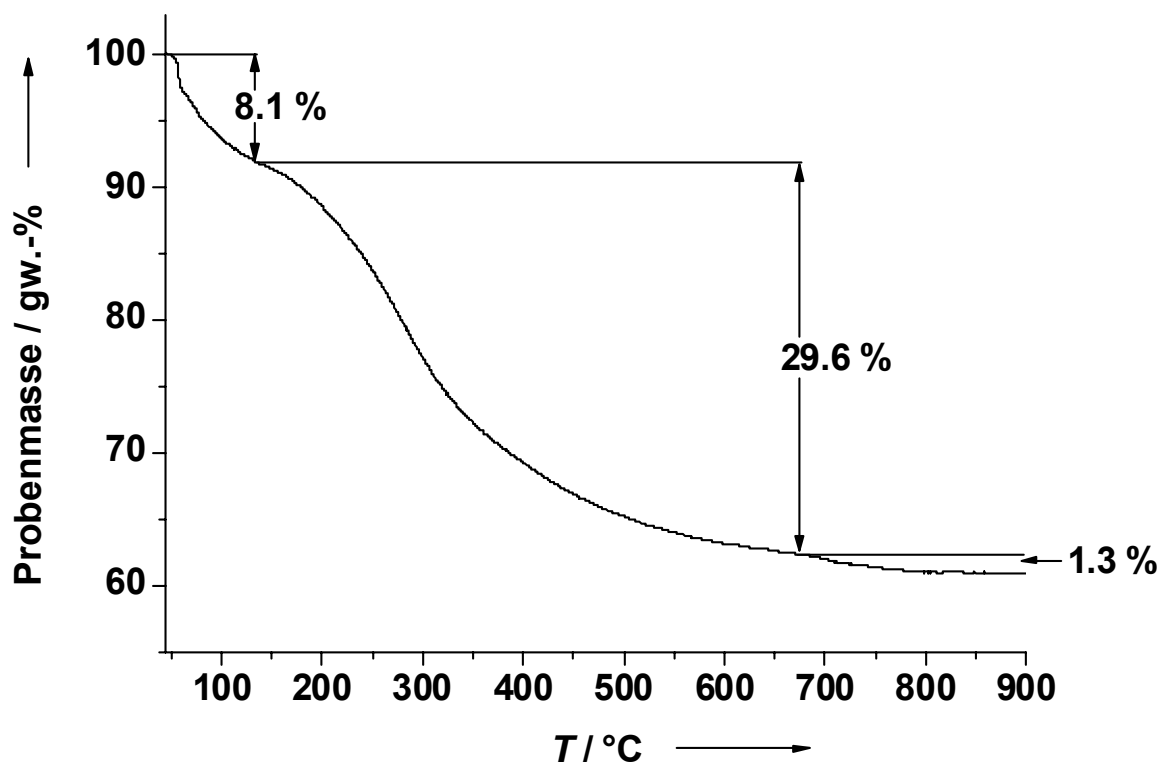


Abbildung 30: TGA der PEI-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel in einer Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) und mit einer Heizrate von 1 K min^{-1} .

Die erste Zersetzungsstufe von 8.1 % beschreibt den Wasserverlust der Probe. Der zweite Zersetzungsschritt von 29.6 % umfasst den Abbrand des Polymers. Dieser Anteil ist sehr hoch. Vermutlich wird das Polymers durch die verzweigte Struktur in Form von größeren Polymerknäulen adsorbiert.^[68] Die dritte und letzte Zersetzungsstufe von 1.3 % beschreibt den CO_2 -Verlust der Probe. Folglich muss die mineralische Phase der Probe 1.8 % Carbonat enthalten. Bei Korrelation dieser Ergebnisse mit den Ergebnissen aus der Elementaranalyse ist eine beträchtliche Differenz für den Polymeranteil festzustellen. Laut Elementaranalytik betrug der Polymeranteil nur 12.3 % berechnet nach dem prozentual gefundenen Kohlenstoff. Es ist davon auszugehen, dass sich bei der TG-Analyse die Massenverluste an Wasser und Polymer nicht differenziert aufschlüsseln lassen. Das Ergebnis der Elementaranalyse sollte hier herangezogen werden. Der Anteil an Calciumphosphat betrug laut TG 62.3 %. Das Ca/P-Verhältnis betrug 1.46. Es handelte sich dementsprechend um Calcium-defizitären Hydroxylapatit.

3.2.3.4 Charakterisierung der mit Carboxymethylcellulose funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel

Carboxymethylcellulose (CMC) ist ein wasserlösliches Derivat der Cellulose bei dem ein Teil der Hydroxygruppen über Etherbrücken mit einer Carboxymethylgruppen verknüpft ist. Mit CMC wird ein Biopolymer zur Funktionalisierung von Calciumphosphat-Nanopartikeln verwendet. CMC ist in der EU als Lebensmittelzusatzstoff E 466 zugelassen.^[69] Außerdem erfüllt es die vom „U.S. Code of Federal Regulations, Title 21, Section 182.1745 - Substances that are generally recognized as safe (GRAS)“ vorgeschriebenen Anforderungen. Somit ist CMC eine attraktive Funktionalisierungsmöglichkeit zum Erhalt vollständig biokompatibler Partikel. Die wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben dargestellten CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden in Bezug auf ihre Partikelgröße und Oberflächenladung mit Hilfe der DLS untersucht. Die charakteristische Größenverteilung vor und nach der Aufreinigung über Ultrazentrifugation und Redispersion in Reinstwasser ist in Abbildung 31 dargestellt. Der *z-Average* für die Partikel vor der Aufreinigung betrug 178 nm und nach der Aufreinigung 157 nm im Durchmesser. Außerdem fiel auf, dass die Größenverteilung vor der Aufreinigung (60-700 nm) viel breiter war als nach der Aufreinigung (60-500 nm). Vor der Aufreinigung vorhandene Agglomerate werden hier im Gegensatz zu den PAH- und PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Partikeln durch die bei der Redispersion herrschenden Scherkräfte getrennt. Der PDI für die Partikel vor der Reinigung lag bei 0.205, nach der Reinigung bei 0.140. Das Zetapotential betrug vor der Aufreinigung $-33 \text{ mV} \pm 5 \text{ mV}$ und nach der Aufreinigung $-29 \text{ mV} \pm 6 \text{ mV}$. Im Rahmen der Standardabweichung verringerte sich das Zetapotential durch die Aufreinigung nicht signifikant

3. Ergebnisse und Diskussion

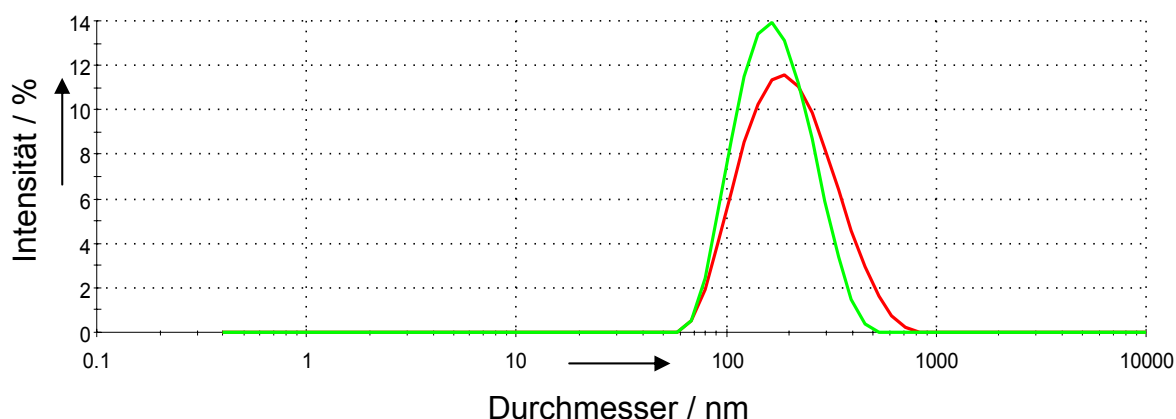


Abbildung 31: Größenverteilung der mit CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; rot: vor der Aufreinigung, grün: nach der Aufreinigung.

Die REM-Aufnahmen (Abbildung 32) zeigen wieder deutlich kleinere Partikel von ca. 50-110 nm im Durchmesser als bei der DLS gemessen wurden. Die Begründung ist erneut der bei der DLS gemessene hydrodynamische Durchmesser und die Quellung der Polymerschicht in wässrigem Medium.

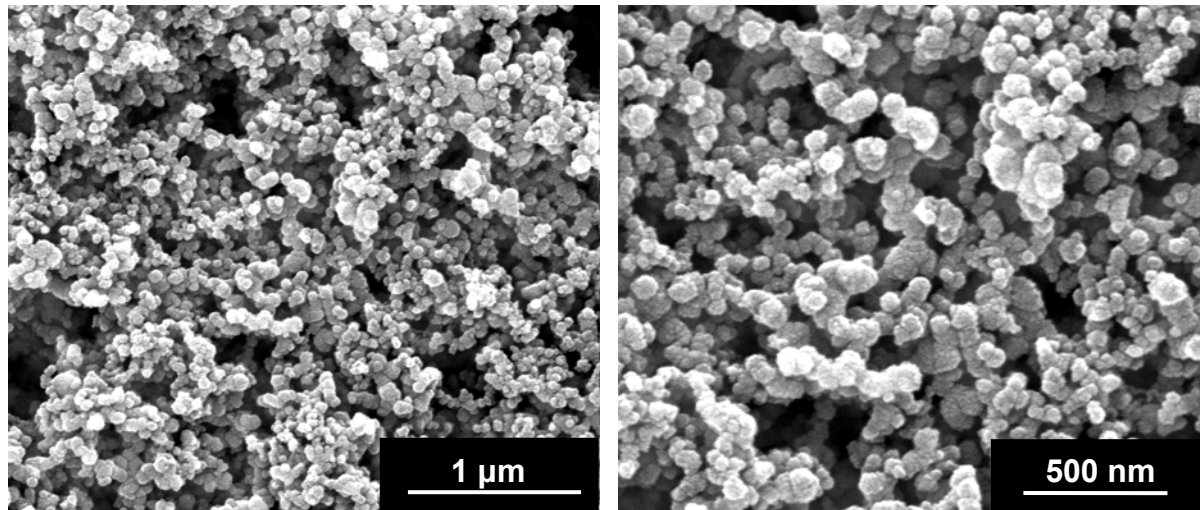


Abbildung 32: REM-Aufnahmen der aufgereinigten CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel.

Abbildung 33 zeigt ein Röntgenpulverdiffraktogramm der mit CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel. Ähnlich wie bei den PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln zeigt sich der amorphe Charakter durch die sehr starke Reflexverbreiterung.

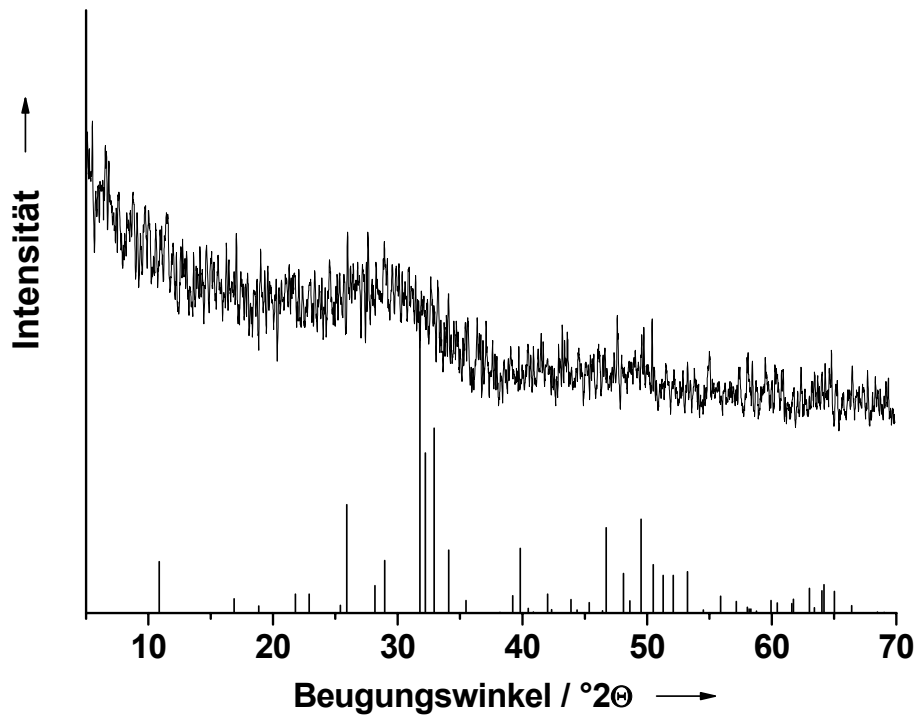


Abbildung 33: XRD der mit CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt.

Auch hier wurde die Zusammensetzung der CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel über Elementaranalyse und thermogravimetrische Analyse (TGA) bestimmt. Die thermische Zersetzung ist in Abbildung 34 dargestellt.

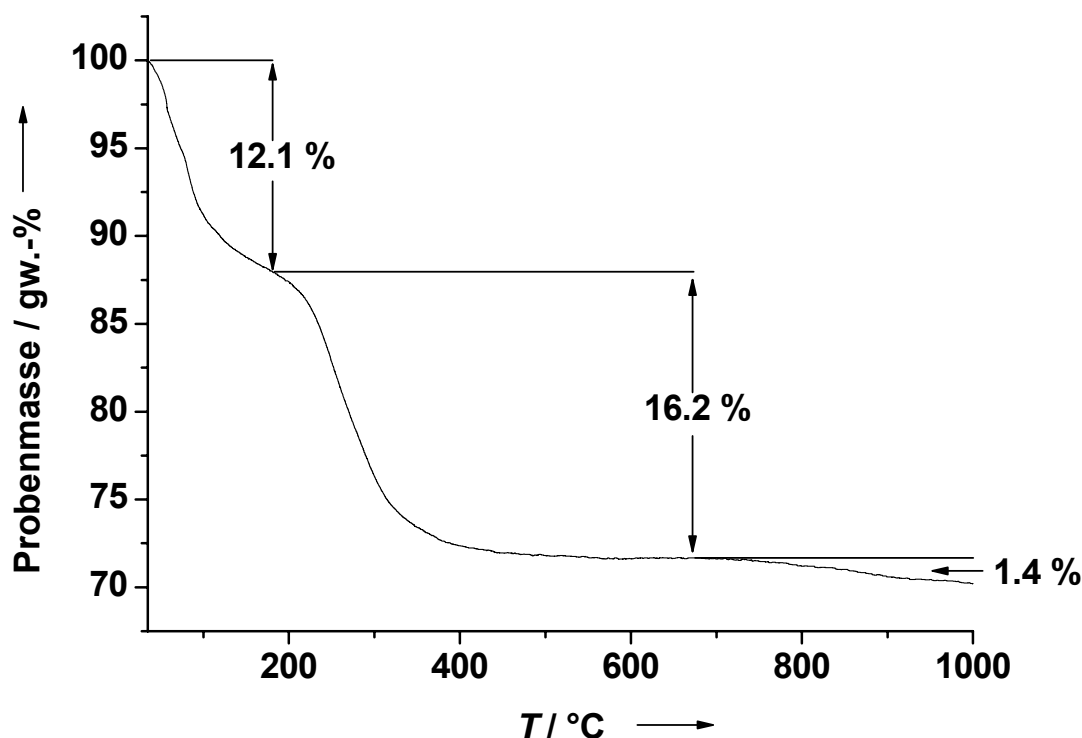


Abbildung 34: TGA der CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel in einer Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) und mit einer Heizrate von 1 K min^{-1} .

Die erste Zersetzungsstufe von 12.1 % beschreibt den Wasserverlust der Probe. Der zweite Zersetzungsschritt von 16.2 % umfasst die Abbrand des Polymers, demnach den Polymergehalt der Probe. Die dritte und letzte Zersetzungsstufe von 1.4 % beschreibt den CO_2 -Verlust der Probe. Folglich muss die mineralische Phase der Probe 1.9 % Carbonat enthalten. Bei dem Vergleich dieser Ergebnisse mit den Ergebnissen aus der Elementaranalyse ist eine relativ gute Übereinstimmung zu erkennen. Der Polymeranteil betrug laut Elementaranalytik abzüglich des aus der TGA erhaltenen Carbonat-Kohlenstoffs 13.1 %, was einer Differenz zur TGA von ca. 3 % entspricht. Grundsätzlich kann ein absoluter methodischer Fehler der thermogravimetrischen Analyse von 0.5 % angenommen werden.^[70] Zusätzlich kommt erschwerend hinzu, dass die Abgrenzung des Wasserverlustes vom Verlust des organischen Anteils im Thermogramm nicht eindeutig ist. Definitionsgemäß beschreibt der Wendepunkt zwischen zwei Masseverlusten die Abgrenzung der beiden Anteile voneinander. Wahrscheinlich ist jedoch, dass sich die anteiligen Masseverluste in der Nähe des Wendepunktes überlagern. Der Anteil an Calciumphosphat betrug laut TG 71.7 %. Das Ca/P-Verhältnis betrug 1.57.

3.2.3.5 Charakterisierung der ι -Carrageen funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel

ι -Carrageen ist ein Biopolymer, welches die Gerüstsubstanzen von Rotalgen bildet. Diese werden nach der Ernte getrocknet und bei 100-140 °C im schwach alkalischen Medium unter Druck extrahiert.^[71] Carrageen setzt sich aus D-Galaktose, D-3,6-Anhydrogalaktose und Sulfatestergruppen zusammen. ι -Car ist in der EU als Lebensmittelzusatzstoff E 407 zugelassen.^[69] Die wie in Kapitel 3.2.2 beschriebenen dargestellten ι -Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden in Bezug auf ihre Partikelgröße und Oberflächenladung mit Hilfe der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) untersucht. Im Gegensatz zu den vier zuvor besprochenen Partikelarten, war es mit ι -Car nur bedingt möglich, Calciumphosphat-Nanopartikel in Dispersion zu stabilisieren. Eine typische Größenverteilung ist in Abbildung 35 dargestellt.

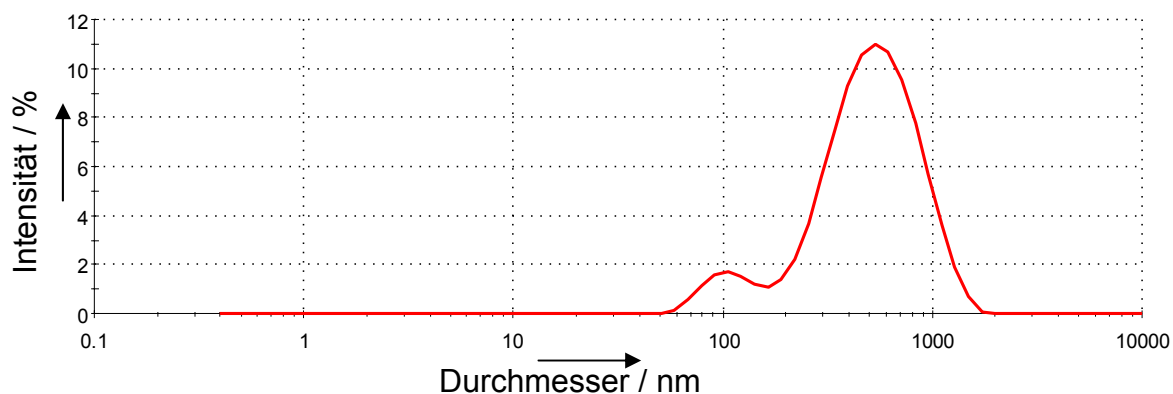


Abbildung 35: Größenverteilung der ι -Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel.

Es sind zwei Peaks bei 111 nm und 577 nm zu erkennen. Der Peak bei 111 nm zeigt wahrscheinlich einzelne Partikel, der Peak bei 577 nm zeigt Agglomerate. Da es sich hier um eine bimodale Verteilung handelt, ist der PDI mit 0.364 sehr hoch. Die Betrachtung des Cumulantenfits der Verteilung zeigt aber, dass die gemessene Verteilung aussagekräftig war. Das Zetapotential lag bei $-44 \text{ mV} \pm 4 \text{ mV}$. Die Partikel waren trotz des hohen Zetapotentials nur ca. einen Tag lang stabil. Grund hierfür waren die von vornherein anwesenden Agglomerate, die die Alterung des Systems gemäß Gleichung 1 beschleunigten. Die Partikel konnten nicht aufgereinigt werden, da sie sich nach der Zentrifugation nicht mehr redispergieren ließen. Allerdings ließen sie sich zu einem gewissen Teil über einen

3. Ergebnisse und Diskussion

Membranfilter mit 100 nm Porendurchmesser abfiltrieren. Größere Mengen konnten dadurch nicht gewonnen werden, da der Filter sich schnell zusetzte. Abbildung 36a zeigt eine REM-Aufnahme der abgefilterten und mit i-Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Partikel. Abbildung 36b zeigt eine hochauflösende Transmissionselektronen-mikroskopie (HRTEM)-Aufnahme. Auf beiden Bildern ist deutlich zu erkennen, dass es sich bei den durch die Lichtstreuung erhaltenen Partikeldurchmessern nicht um die Größe der Primärpartikel handelte, sondern um den mittleren Durchmesser der Agglomerate. Die Agglomerate werden durch eine sichtbare Verklebung mit dem i-Car hervorgerufen. Darüber hinaus war auch die Konsistenz des getrockneten Pellets nach der Zentrifugation interessant. Es war geringfügig elastisch und ließ sich brechen. Abbildung 36c,d zeigen REM-Aufnahmen der Bruchkante des Pellets. Auch hier sind die Verklebungen deutlich sichtbar. Es sind fast gelartige Strukturen zu erkennen.

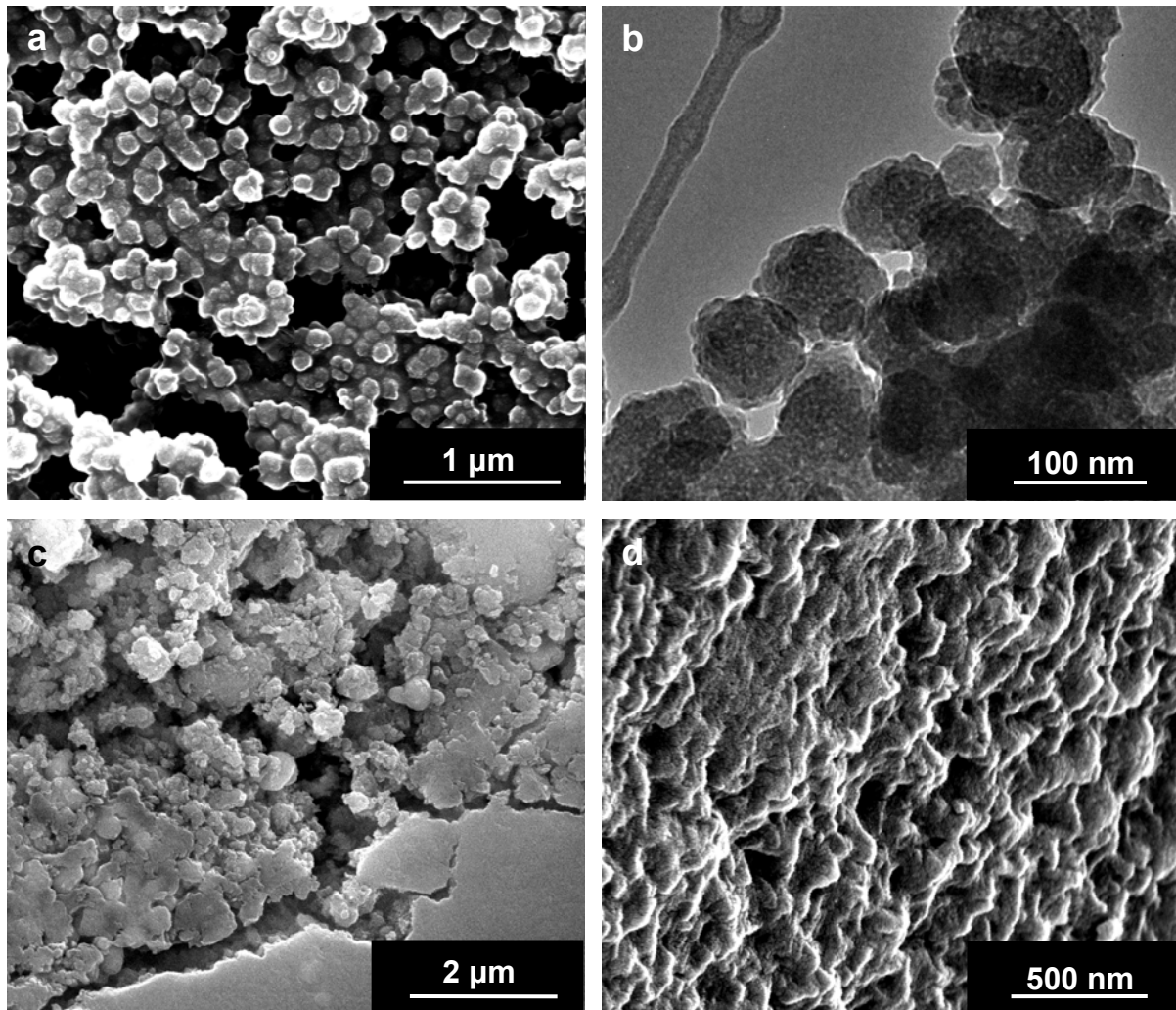


Abbildung 36: a REM-Aufnahme der i-Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; b TEM-Aufnahmen der i-Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; c,d REM-Aufnahmen der Bruchkante eines Zentrifugationspellets von mit i-Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln.

Abbildung 37 zeigt ein Röntgenpulverdiffraktogramm der i-Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel. Ähnlich wie bei den PAH- und CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln zeigt sich der amorphe Charakter durch die sehr starke Reflexverbreiterung.

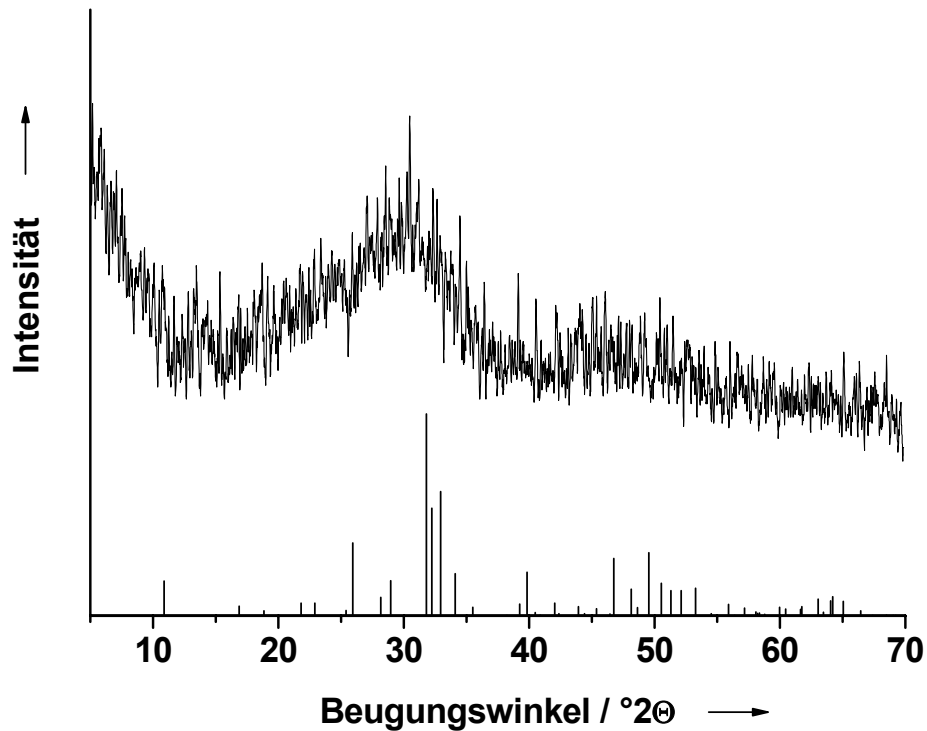


Abbildung 37: XRD der i-Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel; zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt.

Die Zusammensetzung der i-Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurde über Elementaranalyse und thermogravimetrische Analyse (TGA) bestimmt. Die thermische Zersetzung ist in Abbildung 38 dargestellt.

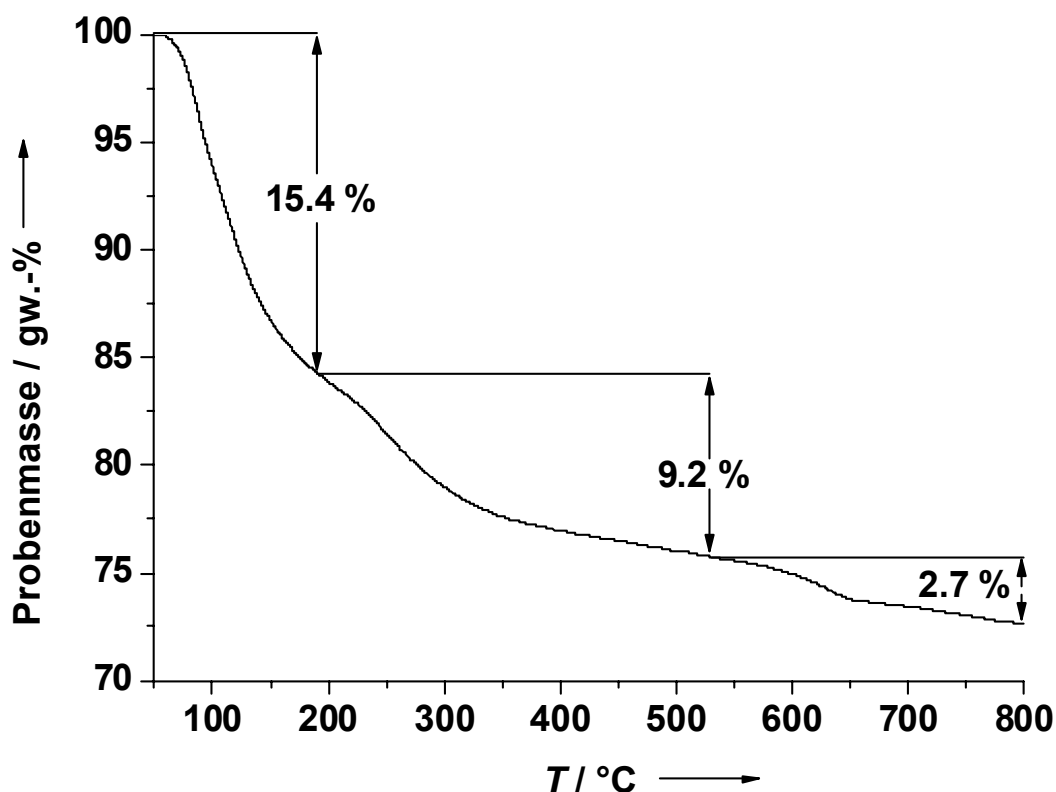


Abbildung 38: TGA der i-Car-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel in einer Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) und mit einer Heizrate von 1 K min^{-1} .

Die erste Zersetzungsstufe von 15.4 % beschreibt den Wasserverlust der Probe. Der zweite Zersetzungsschritt von 9.2 % umfasst den Abbrand des Polymers, demnach den Polymergehalt der Probe. Die dritte und letzte Zersetzungsstufe von 2.7 % beschreibt den CO_2 -Verlust der Probe. Folglich muss die mineralische Phase der Probe 3.7 % Carbonat enthalten. Bei Korrelation dieser Ergebnisse mit den Ergebnissen aus der Elementaranalyse ist eine sehr gute Übereinstimmung zu erkennen. Der Polymeranteil betrug laut Elementaranalytik 9.31 %. Der Anteil an Calciumphosphat betrug laut TG 72.6 %. Das Ca/P-Verhältnis betrug 1.73.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.2.4 Vergleich der vorgestellten Partikel und Zusammenfassung

In diesem Kapitel der Arbeit konnte gezeigt werden, dass es möglich ist Calciumphosphat-Nanopartikel mit verschiedenen Polymeren zu funktionalisieren und auch in Dispersion zu stabilisieren. Die Größen der funktionalisierten Partikel konnte über die DLS und über REM-Aufnahmen festgestellt werden. Die genaue Zusammensetzung der verschiedenen Partikel wurde über elementaranalytische Methoden und Thermogravimetrie ermittelt. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Funktionalisierung von Calciumphosphat-Nanopartikel mit synthetischen und biologischen Polymeren.

Polymer	PAH	PSS	PEI	CMC	i-Car
Ca-Gehalt (AAS) / %	22.82	26.37	28.70	25.37	29.00
PO ₄ ³⁻ - Gehalt (UV) / %	41.15	36.85	46.40	38.30	39.65
Polymergehalt (C,H,N-Analyse) / %	14.70	15.98	12.32	13.10	9.31
molares Ca/P-Verhältnis	1.31	1.70	1.46	1.57	1.59
w (C)	10.13	9.75	7.43	6.10	4.48
w (H)	3.72	2.48	2.73	3.10	2.30
w (N)	3.11	-	3.90	-	-
w (S)	-	2.80	-	-	1.25
Mineralgehalt (TG) / %	68.1	72.6	62.3	71.7	72.6
H ₂ O-Gehalt (TG) / %	16.9	11.5	8.1	12.1	15.4
Polymergehalt (TG) / %	14.9	15.9	29.6	16.2	9.2
CO ₂ -Gehalt (TG) / %	3.7	0.6	1.3	1.4	2.7
Durchmesser / nm (DLS)	117	110	120	178	(350)
Zetapotential / mV (DLS)	52 ± 7	-41 ± 6	36 ± 10	-30 ± 5	-44 ± 4
Durchmesser / nm (REM)	50-80	50-80	80-100	50-110	80-100
Kristallinität (XRD)	amorph	nano-kristallin	nano-kristallin	amorph	amorph

3. Ergebnisse und Diskussion

Bei der Betrachtung der Partikelgrößen fällt auf, dass im REM alle Primärpartikel unabhängig von ihrer Funktionalisierung einen Durchmesser von ca. 80 nm zeigten. Diese Größe zeigten auch unfunktionalisierte Calciumphosphat-Nanopartikel (Abbildung 11), welche bereits 2004 durch Welzel et al. beschreiben wurden.^[72] Es ist davon auszugehen, dass die Reaktionszeit nicht von Bedeutung ist, da unabhängig von der Verweilzeit im Reaktor von 1 min bei Urch et al.^[68] bis zu 20 min in dieser Arbeit die Primärpartikel im REM immer die gleiche Größe zeigten. Allerdings beeinflusste die Verweilzeit den Polymergehalt an den Partikel, so ist bei Urch et al. der Polymergehalt an PAH und PSS bei der halben hier verwendeten Polymerkonzentration mit 1-2 % angegeben.^[68] Auch sind die im REM gefundenen Durchmesser immer kleiner, als durch die DLS bestimmt wurde. Dies liegt zum einen an den durch die DLS erfassten hydrodynamischen Radien, die größer sind als die tatsächlichen Radien. Außerdem liegen die Polymerschichten im wässrigen Medium gequollen vor, das heißt, sie besitzen einen hohen Wasseranteil.^[67] Des Weiteren adsorbieren die Polymere nicht mit jeder Monomereinheit auf dem Partikel. Dadurch kommt es zu in die Lösung reichende Polymerschlaufen und Polymerschwänzen.^[67] Diese trugen zur für die DLS sichtbaren Vergrößerungen der Partikel bei. Basierend auf den hier gezeigten Partikelfunktionalisierungen schließen sich die folgenden Kapitel zu Anwendungsmöglichkeiten funktionalisierter Calciumphosphat-Nanopartikel an. So bilden die PAH-funktionalisierten Partikel die Grundlage zur Verwendung als Templat zur Synthese von Polymernanokapseln (Kap. 3.3). Die PSS- und CMC-funktionalisierten Partikel sind die Basis zur Verwendung von Calciumphosphat-Nanopartikeln als Trägersystem für die Photodynamische Therapie (Kap. 3.4).

3.3 Darstellung von Polymer-Nanokapseln auf der Basis von Templaten aus Calciumphosphat-Nanopartikeln

3.3.1 Einführung in die Thematik

Zur Darstellung von Mikro- und Nanokapseln gibt es grundsätzlich die Möglichkeit, flüssige, feste und sogar gasförmige Template zu benutzen. Die Darstellung nach Al Khouri Fallouh beschreibt die Verwendung von flüssigen Templaten.^[73,74] Hierbei wird eine Miniemulsion aus Wasser und Öl hergestellt, wobei die ca. 50-500 nm (je nach Art der bei der Dispergierung angelegten Scherkräfte) großen Öltröpfchen durch Tenside stabilisiert werden. Durch Zugabe von amphiphilen Monomeren und anschließend eingeleiteter Grenzflächenpolymerisation entstehen Nanokapseln mit Ölkern, in die z.B. lipophile Wirkstoffe eingelagert werden können. Eine andere Darstellungsweise von Nanokapseln geht von festen Templaten aus. Hierbei werden Nanopartikel gezielt mit Polymeren nach der *Layer-by-Layer*-(*LbL*-) Methode^[75,76] beschichtet, um anschließend das feste Templat herauslösen zu können. Übrig bleiben dann Kapseln bestehend aus einer Polymerhülle.^[77] Die Verwendung von Luftbläschen als Templaten zur Kapselsynthese gehört eher zu den exotischeren Möglichkeiten und wurde erstmals 2005 von Shchukin et al. publiziert.^[78] Hierbei wurde durch Ultraschall eine Luftmikrodispersion nach El-Sherif^[79] und Kim^[80] dargestellt. Anschließend wurde ähnlich wie bei den festen Templaten eine Polymermultischicht nach der *LbL*-Methode auf die Luftbläschen aufgetragen.

Da im Rahmen dieser Dissertation die Darstellung von Polymernanokapseln mit Calciumphosphat-Nanopartikeln als Kern behandelt wird, soll im weiteren Verlauf auch nur auf die Möglichkeit zu Kapseldarstellung auf der Basis von festen Templaten genauer eingegangen werden. Die Erzeugung von Polymermultischichten auf Oberflächen wurde erstmals von Decher et al. in den 90er Jahren publiziert und als *Layer-by-Layer* (*LbL*)-Methode bezeichnet.^[75,76] Decher beschreibt, dass durch das Aufbringen mehrerer Polyelektrolyte alternierender Ladung auf eine planare Oberfläche eine stabile Polyelektrolytschicht entsteht. Anschließende Forschungsaktivitäten ergaben, dass diese Multischichten nicht nur auf planaren Oberflächen, sondern auch auf Mikropartikeln realisierbar sind. So publizierten Möhwald et al. die Anwendung der (*LbL*)-Technik zur Beschichtung von Latex-Mikropartikeln, bestehend aus Polystyrol oder Melaminformaldehyd.^[5] Die Polymerschichten werden durch elektrostatische Wechselwirkungen

3. Ergebnisse und Diskussion

zusammengehalten. Die Triebkraft zur Bildung dieser Schichten ist der Entropiegewinn bei der Adsorption eines Polyelektrolyten auf einer Oberfläche bzw. auf einem entgegengesetzten Elektrolyten.^[81] Wie im Kapitel 2.1.2 beschrieben bildet sich bei der Dispergierung von Partikeln in einem wässrigen Medium eine Ladungswolke, die von Gegenionen aus dem Medium kompensiert wird. Durch die Adsorption eines Polyelektrolyten an der Partikeloberfläche werden zahlreiche Gegenionen verdrängt und es ergibt sich somit ein Entropiegewinn für das System. In der Literatur sind verschiedenste Polymerkombinationen zum Aufbau von Multischichten beschrieben. Besonders die Kombination der synthetischen Polymere PAH/PSS ist eingehend studiert worden und kann als Modellsystem angesehen werden. Diese Kombination ist in fast allen in diesem Kapitel zitierten Literaturstellen beschrieben. Meist werden bis zu acht Schichtpaare aufgetragen, wobei eine Schicht im Durchschnitt 1.7 nm dick ist und 42 % Wasser enthält.^[67] Darüberhinaus sind auch die Kombinationen aus weiteren synthetischen Polymeren wie PDADMAC/PSS^[82,83], PAA/PSS^[84,85], PEI/PSS^[86] und PAH/PVS^[87] bekannt. Desweiteren wurden auch Kombinationen aus synthetischen und biologischen Polymeren wie PDADMAC/DNA^[88], PAH/DNA^[89] und Kombinationen aus nur biogenen Polymeren wie Chitosan/Alginat^[90], Chitosan/Dextransulfat^[91], Chitosan/Carboxymethylcellulose und Carrageen^[92] untersucht. Außerdem besteht zusätzlich die Möglichkeit, die Polymermultischichten durch Einbringung von Nanopartikeln oder Ionen zu modifizieren. In der Literatur wurden Einbringungen von SiO₂-Nanopartikeln^[93-96], TiO₂-Nanopartikeln^[97], Ag-Nanopartikeln^[98], Fe₃O₄-Nanopartikeln^[99,100], CdTe-*Quantum dots*^[101] sowie Fe³⁺-Ionen^[102] und Tb³⁺-Ionen^[103] beschrieben. Als Templatmaterialien zur Kapselsynthese wurden zahlreiche Mikro- und auch einige Nanopartikel genutzt. Tabelle 8 fasst die gängigen Template zusammen.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 8: Zusammenfassung der Template und ihre Nachteile beim Auflöseprozess^[104]

Templat	Größe / μm	Nachteil beim Auflöseprozess
Melaminformaldehyd ^[105-108]	0.3-10	Rückstände
Polystyrol-Latex ^[109,110]	0.1-5	Rückstände
SiO_2 ^[83,84,111-113]	0.03-100	Aggregation der Kapseln
CdCO_3 ^[114] , MnCO_3 ^[115] , CaCO_3 ^[116,117]	3-8	Cd^{2+} -Toxizität bei CdCO_3
Au ^[118-120]	0.015-0.050	Einsatz von KCN

Melaminformaldehyd und Polystyrol-latex-Partikel in verschiedensten Größen sind die am häufigsten verwendeten Template. Ebenso häufig ist die PAH/PSS-Funktionalisierung. Sowohl die Polystyroltemplate als auch die PAH/PSS-Funktionalisierung wurden in fast allen hier zitierten Publikationen diskutiert. Siliciumdioxid, Cadmiumcarbonat, Mangancarbonat, und Calciumcarbonat sind Beispiele für anorganische Template. Gold-Nanopartikel sind die bis jetzt einzigen Metalltemplate. Biologische Template wie Erythrozyten^[121], Enzymkristalle^[122] und Zellen^[123] werden seltener verwendet. Fast alle genannten Template zeigen unerwünschte Ereignisse bei dem alles entscheidenden Auflöseprozess zur letztendlichen Kapselsynthese. Diese reichen von Rückständen des Kapselkerns über Aggregation bis hin zur Notwendigkeit des Einsatzes von hochtoxischem KCN. Da die resultierenden Kapseln z.B. als Wirkstoffträgersysteme verwendet werden sollen, muss gewährleistet sein, dass das Templat vollständig entfernt wird, die Kapselhülle dabei aber nicht beschädigt wird oder agglomeriert.^[124] Nur die anorganischen Carbonatemplate zeigen keine Rückstände oder andere Nebeneffekte bei dem Auflöseprozess, sind aber 3-8 μm groß.

Es sollte nun nach einem ähnlich biokompatiblen Templatkern wie Calciumcarbonat gesucht werden, der aber im Größenbereich von deutlich unter 1 μm vorliegt. Die Verwendung von Calciumphosphat-Nanopartikeln als Templaten zur Darstellung von Polymernanokapseln habe ich bereits eingehend im Rahmen meiner Diplomarbeit behandelt.^[125] In dieser Arbeit wurden Calciumphosphat-Nanopartikel über eine Fällungsreaktion dargestellt. Anschließend wurden mit Polyallylaminhydrochlorid (PAH) und Polystyrolsulfonat (PSS) drei Polyelektrolytschichten (PAH/PSS/PAH) auf den Calciumphosphat-Templaten aufgebaut. Es wurde versucht, den

Calciumphosphat-Kern durch pH-Wert-Erniedrigung herauszulösen. Dies führte zu nur teilweise geleerten Polymerkapseln mit Calciumphosphat-Rückständen in den Kapseln. Nun sollten im Rahmen dieser Dissertation die PAH/PSS/PAH-beschichteten Calciumphosphat-Nanopartikel reproduziert und eine Strategie zum vollständigen Herauslösen des gesamten Calciumphosphat-Kerns entwickelt werden.

3.3.2 Ergebnisse und Diskussion

Es wurden PAH-funktionalisierte Calciumphosphat-Nanopartikel wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben dargestellt. Die Charakterisierung dieser Partikel ist im Kapitel 3.2.3.1 beschrieben. Die Methode zur Auftragung weiterer Schichten auf die PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurde aus der bereits oben erwähnten Diplomarbeit übernommen^[125] und soll an dieser Stelle noch einmal kurz zusammengefasst werden. 0.5 mL einer Dispersion der PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden auf 20 mL Reinstwasser gegeben. Anschließend wurden mit Hilfe des Autotitrators von Malvern 0.4 mL PSS-Lösung zum Aufbau der zweiten Schicht und in einem nachfolgenden Schritt 0.2 mL PAH-Lösung zum Aufbau der dritten Schicht zugegeben. Abbildung 39 zeigt die entsprechenden Partikeldurchmesser der ein- bis dreifach beschichteten Calciumphosphat-Nanopartikel. Der Partikeldurchmesser stieg mit jeder aufgetragenen Schicht um 10-24 nm, was einer gemittelten Schichtdicke von 5-12 nm entspricht. Damit sind die hier gemessenen Schichtdicken bis zu siebenfach dicker als in der Literatur beschrieben.^[67] Eine mögliche Erklärung wird im späteren Verlauf dieser Arbeit gegeben.

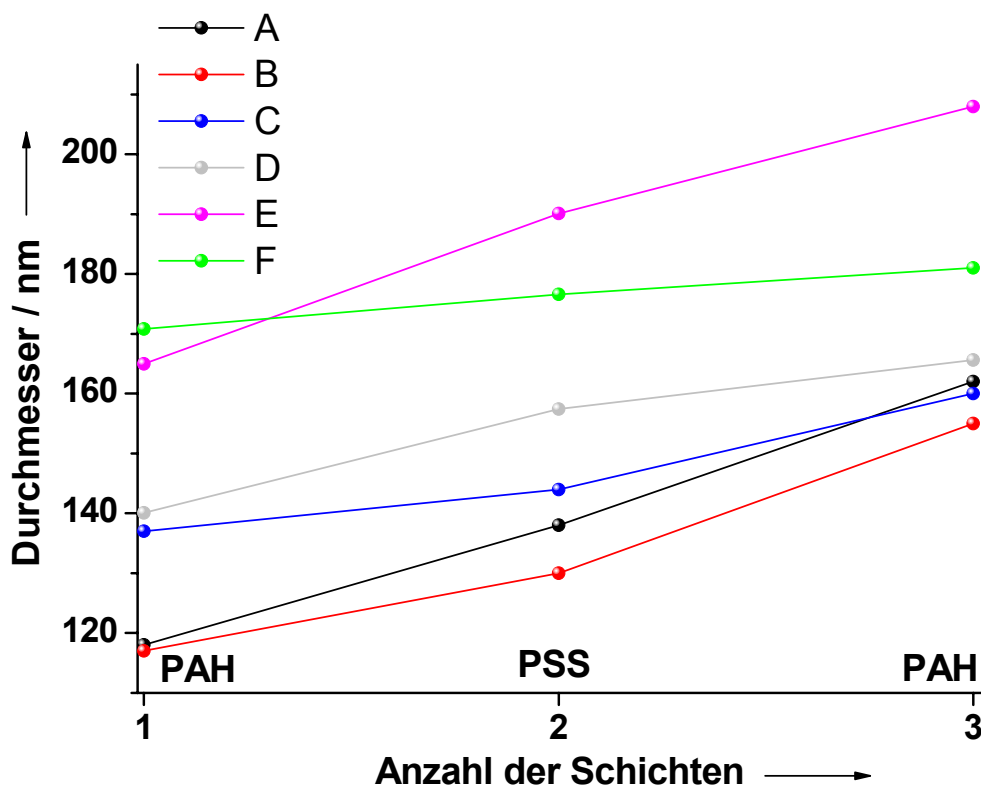


Abbildung 39: Diagramm der Durchmesser der ein- bis dreischaligen Calciumphosphat-Nanopartikel; es sind die Ergebnisse sechs analoger Ansätze dargestellt: D, E, F sind entnommen aus Referenz^[125,126]; A, B, C sind reproduzierte Ergebnisse.

Die Diskrepanz zwischen den in Abbildung 39 dargestellten Partikeldurchmessern der sechs Ansätze ist auf den Zeitpunkt des Aufbaus der zweiten Schicht zurückzuführen, da die einfach beschichteten Partikel mit der Zeit wachsen. Dies wurde eingehend in meiner Diplomarbeit diskutiert.^[125] Die Ansätze A, B, C und D wurden innerhalb einer Stunde eingesetzt. Da die PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel sich zwar abzentrifugieren, aber anschließend nicht mehr redispergieren lassen, wurde zur Auftragung weiterer Schichten die Methode von Sukhorukov et al. gewählt.^[88,127] Hierbei wurde der zur vollständigen Bedeckung der Partikeloberfläche benötigte Polymeranteil über die Verfolgung des Zetapotentials realisiert. Bei Zugabe eines zur Partikeloberfläche entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten kehrt sich das Zetapotential um und steigt so lange, bis die Partikeloberfläche vollständig bedeckt ist. Bei weiterer Zugabe des Polymers ändert sich dann das Zetapotential nicht mehr, und das zu viel zugegebene Polymer wird frei in Lösung vorliegen. Der Punkt der Oberflächensättigung kann auf diese

3. Ergebnisse und Diskussion

Weise genau bestimmt werden. Des Weiteren sollte die zu beschichtende Partikeldispersion möglichst hoch verdünnt vorliegen.^[128] Durch die Verdünnung werden die Zusammenstöße der Partikel reduziert. Abbildung 40 zeigt den Verlauf der Zetapotentialsechs analoger Ansätze bei der Auftragung von Polyelektrolyten alternierender Ladung.

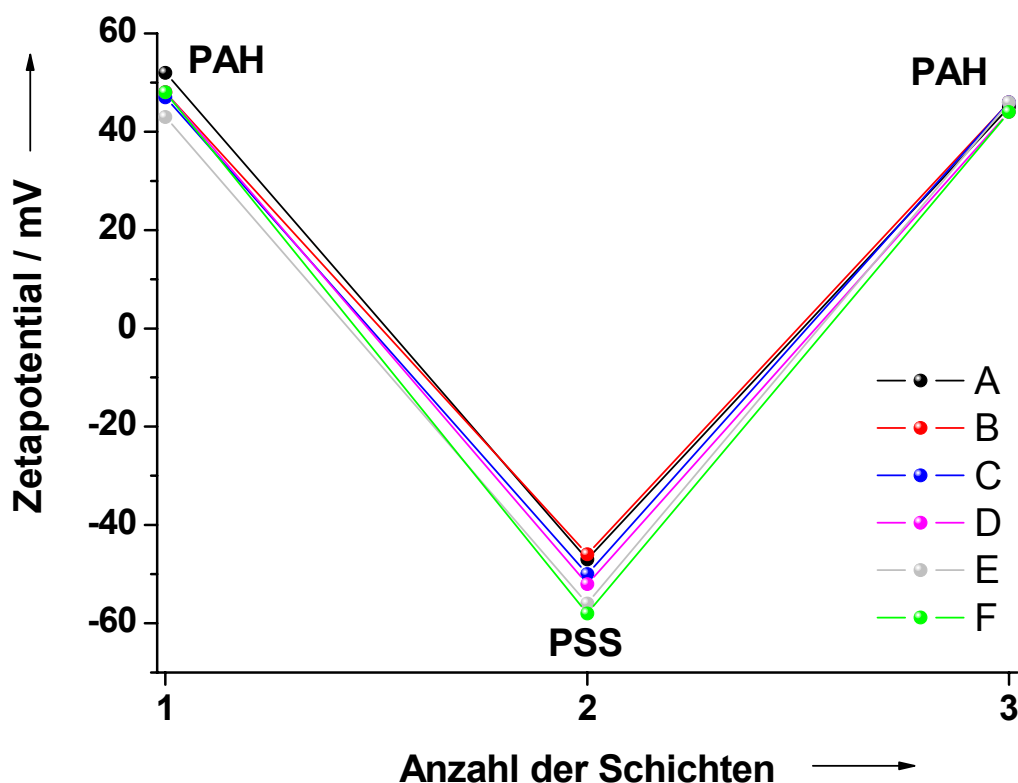


Abbildung 40: Diagramm der Zetapotentialsechs analoger Ansätze bei der Auftragung von Polyelektrolyten alternierender Ladung; es sind die Ergebnisse sechs analoger Ansätze gezeigt: D, E, F sind entnommen aus Referenz^[125,126]; A, B, C sind reproduzierte Ergebnisse.

In meiner Diplomarbeit habe ich versucht, den Calciumphosphat-Kern aus der Polymerschicht durch die Zugabe von Salzsäure herauszulösen. Dies gelang nur unvollständig und konnte auch im Rahmen dieser Dissertation reproduziert werden. Abbildung 41 zeigt gefüllte und unvollständig geleerte Kapseln der in dieser Arbeit reproduzierten Ansätze. Die Bilder a und b sind bezüglich des Kontrastes bearbeitet worden, um die Grenze zwischen Kern und Schale deutlicher herausstellen zu können.

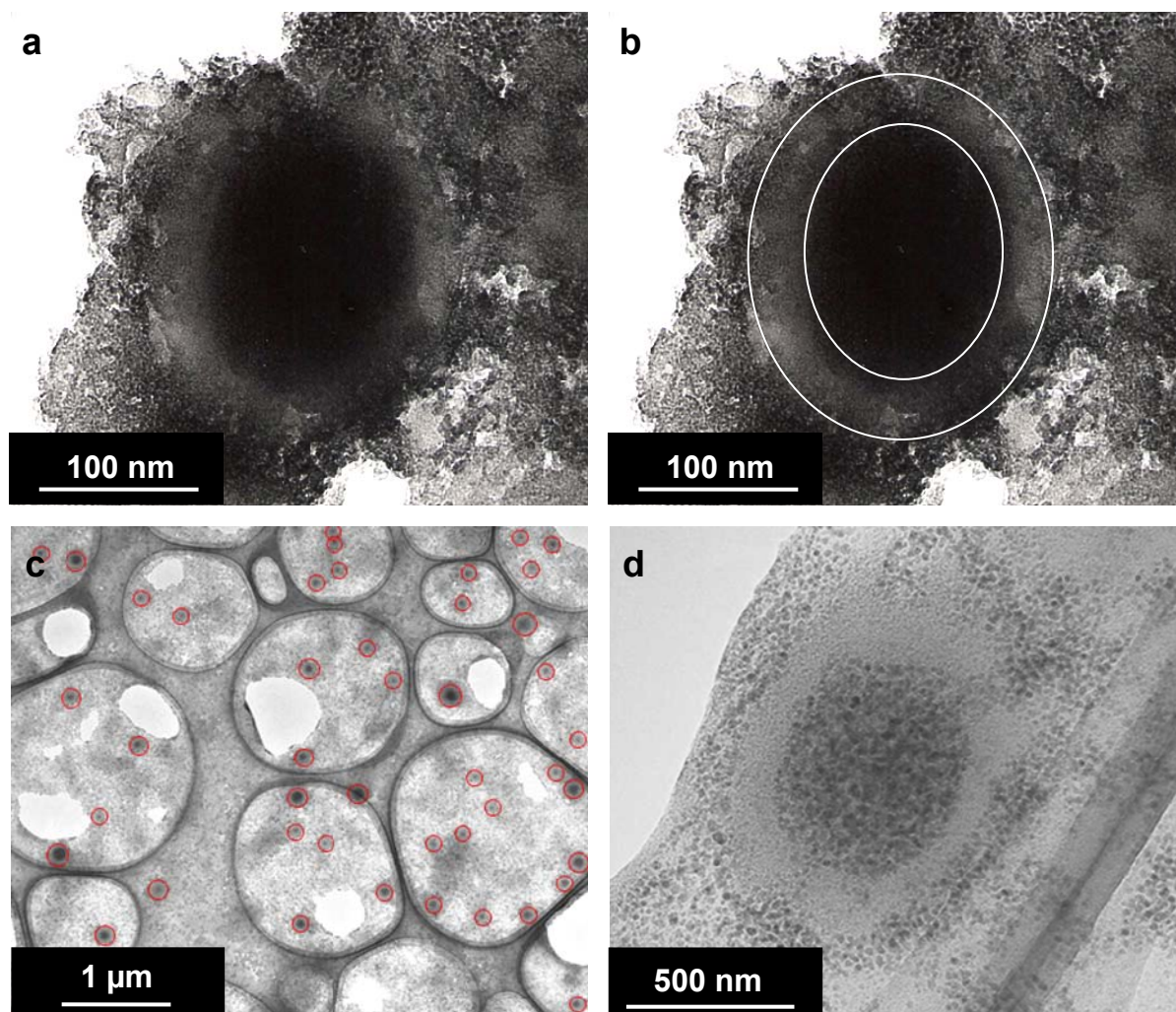


Abbildung 41: TEM-Aufnahmen von teilgefüllten dreischaligen Kapseln; a und b zeigen die gleiche noch gefüllte Kapsel (a) ohne und (b) mit Kennzeichnung der Abgrenzungen von Kern und Schale; c zeigt eine Übersichtsaufnahme mit einer Anzahl teilgefüllter Kapseln durch rote Kreise gekennzeichnet; d zeigt die Nahaufnahme einer teilgefüllten Kapsel.

Die Kapsel in Abbildung 41a und b beinhaltet noch einen massiv erscheinenden Calciumphosphat-Kern. Abbildung 41c und d zeigen Kapseln, deren Kern nicht mehr massiv ist. Er ist aus vielen Nanopartikeln, die kleiner als 10 nm sind, aufgebaut. Die Nanopartikel sind hauptsächlich im Inneren der Kapsel konzentriert, zum Teil auch innerhalb und außerhalb der Kapselhülle. Dieses Ergebnis ist über die Diffusionsprozesse bei der pH-Wert-Absenkung und der Trocknung der Probe zu erklären. Protonen diffundieren durch die Kapselhülle in den Kern und lösen dort das Calciumphosphat auf. Die Calcium- und Phosphationen diffundieren aus dem Inneren der Kapsel heraus. Durch das Eintrocknen der Kolloiddispersion auf dem

3. Ergebnisse und Diskussion

TEM-Probenträger fällt das Calciumphosphat bei entsprechender Sättigung wieder aus. Sind dabei nicht alle Calcium- und Phosphationen aus der Kapsel heraus diffundiert, so fallen sie auch innerhalb der Kapsel und Kapselhülle wieder aus. Die Tatsache, dass nur ein Teil der Calcium- und Phosphationen aus dem Kapselinneren heraus diffundieren, lässt die Einstellung eines Gleichgewichtes zwischen Kapselinnerem und der umgebenen Lösung vermuten. Somit lag die Überlegung nahe, die bereits aus dem Kapselinneren heraus diffundierten Ionen aus dem Gleichgewicht zu entfernen, um dieses zu verschieben. Zu diesem Zweck wurden nacheinander Ionentauscher eingesetzt, die entweder die Phosphationen gegen Hydroxidionen austauschten oder die Calciumionen gegen Protonen austauschten. Der Fortgang des Ionenaustausches konnte so über die Veränderung des pH-Wertes verfolgt werden. Bei der Berührung der Partikeldispersion mit den als Granulat vorliegenden Ionentauschern kam es zur Agglomeration der Partikel. Um die direkte Berührung des Granulats mit der Partikeldispersion zu vermeiden, wurde eine Dialyse durchgeführt. Dabei wurde die Porenweite des Dialyseschlauches mit 25 Å so gewählt, dass die Ionen durch den Schlauch wanderten, die Partikel aber im Schlauch blieben. Abbildung 42 zeigt den schematischen Aufbau der Dialyse.

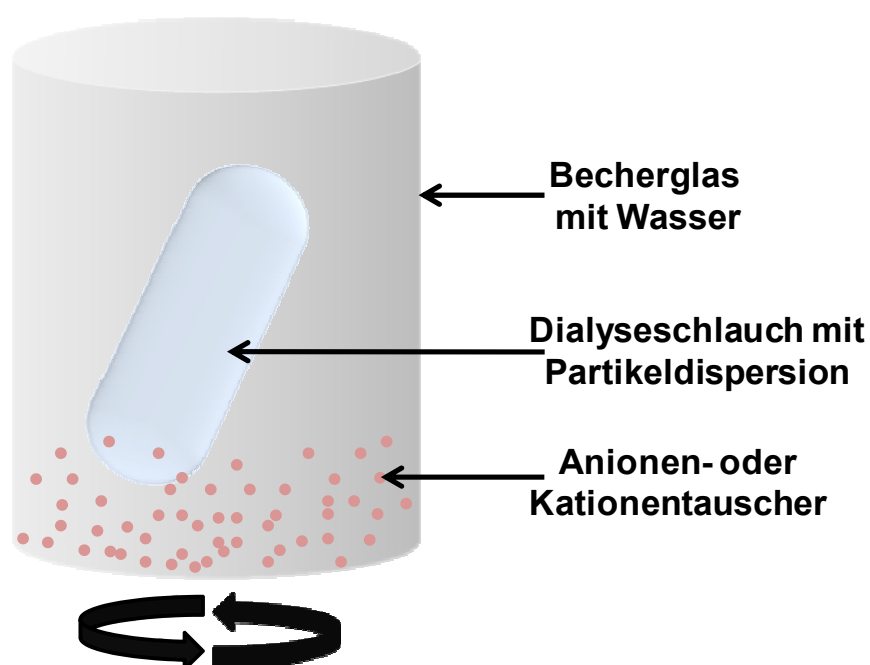


Abbildung 42: Schematische Darstellung des Dialyseaufbaus zur vollständigen Leerung der Nanokapseln.

3. Ergebnisse und Diskussion

50 mL einer Partikeldispersion, bestehend aus dreifach beschichteten Calciumphosphat-Nanopartikeln, wurden mit HCl auf einen pH-Wert von 2-2.5 eingestellt und nach einem Tag Alterung in einen Dialyseschlauch gefüllt. Dieser wurde dann in ein Becherglas mit 2 L Reinstwasser gegeben, das 7.5 g des Kationentauschers enthielt. Die Dialyse wurde unter Rühren durchgeführt, sodass der Dialyseschlauch immer in Bewegung war. Während der Dialyse wurde der pH-Wert verfolgt. Wenn dieser sich nicht mehr merklich veränderte, wurde der Dialyseschlauch herausgenommen, mit Reinstwasser abgespült und in ein weiteres Becherglas gegeben, welches 2 L Reinstwasser und 7.5 g des Anionentauschers enthielt. Hier wurde der Verlauf der Dialyse ebenfalls über die pH-Wert-Änderung verfolgt. Zusätzlich war bei diesem Schritt darauf zu achten, dass der pH-Wert nicht über 9 stieg, da sonst die Partikel- bzw. Kapseldispersion destabilisiert wurde und es zu Flockungen kommen konnte. Auf diese Beobachtung wird im Rahmen einer Stabilitätsstudie im späteren Verlauf dieses Kapitels genauer eingegangen. Nach dem Ende der 2. Dialyse, ebenfalls durch einen unveränderten pH-Wert gekennzeichnet, wurde die Dispersion aus dem Dialyseschlauch genommen und im TEM betrachtet. Abbildung 43 zeigt die resultierenden TEM-Aufnahmen. Bild a wurde in Essen an einem Philips CM 200 FEG-TEM aufgenommen. Die Bilder b-d zeigen HRTEM-Aufnahmen (JEOL 3000FEG), die in Madrid angefertigt wurden. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Kapseln vollständig geleert sind. Zusätzlich wurden in Madrid orts aufgelöste EDX-Spektren der Kapselwand und des Kapselinneren aufgenommen. Diese Spektren zeigten, dass weder im Kern noch in der Kapselwand Calcium vorhanden war. Ein sehr geringer Anteil an Phosphat war in der Kapselwand zu finden. Dieser lag wahrscheinlich in der Komplexbildung von PAH mit Phosphationen begründet.^[129-131] Diese Komplexe liefern auch eine mögliche Erklärung für die bereits angesprochenen großen Schichtdicken der Polymerschichten im Vergleich mit den in der Literatur beschriebenen Schichten.

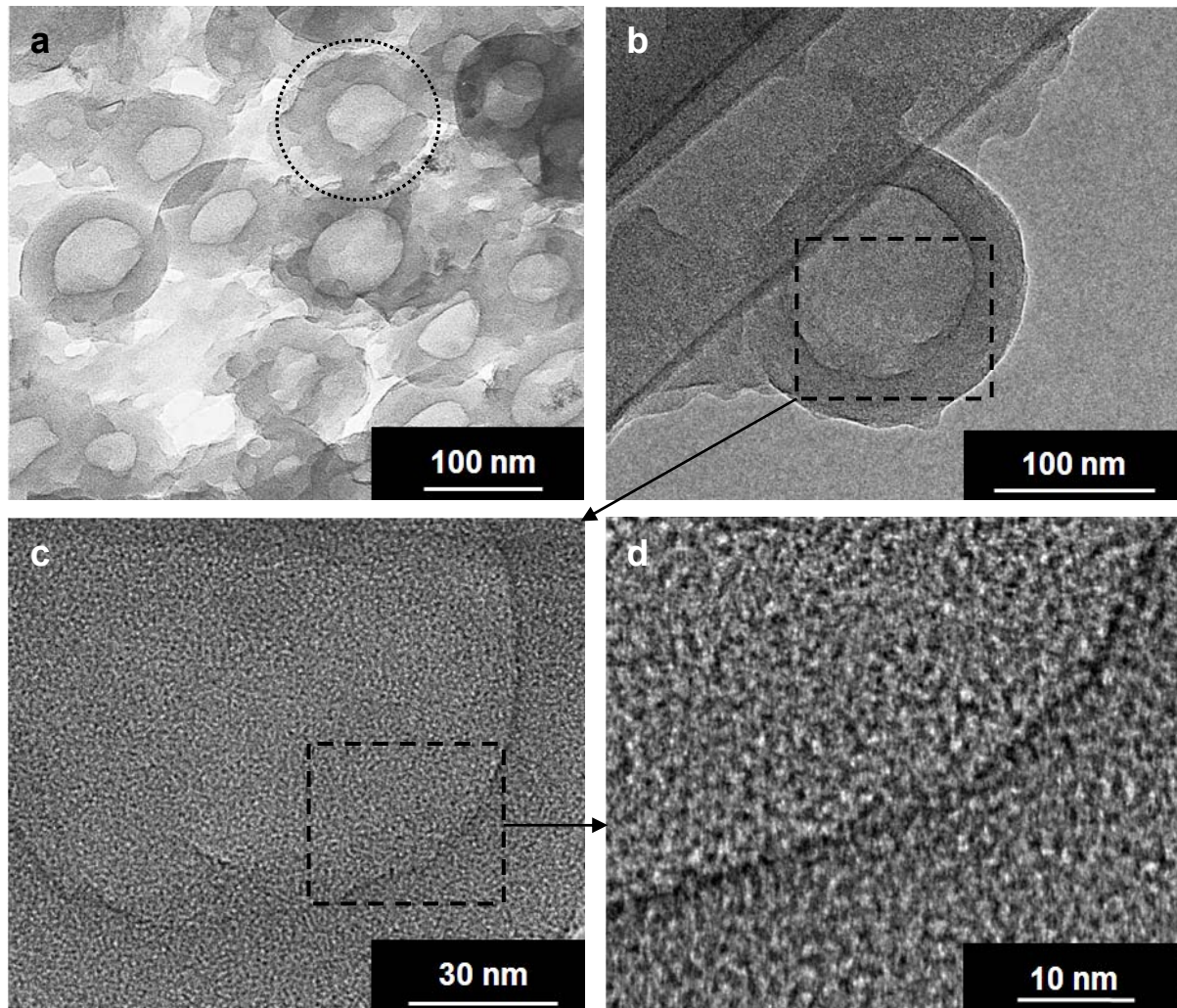


Abbildung 43: TEM-Aufnahmen der vollständig geleerten Polymerkapseln nach der Dialyse; a Übersichtsaufnahme mehrerer Kapseln, eine Kapsel ist markiert; b-d HRTEM-Aufnahmen einer Kapsel mit unterschiedlichen Vergrößerungen.

Die Abbildung der Kapseln im REM ist weniger eindeutig als in den TEM-Aufnahmen. Im REM sind kreisrunde Gebilde zu erkennen, die sich nicht wesentlich von den PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Partikeln (Abbildung 20) unterscheiden. Ein EDX-Spektrum der Kapseln ergab aber genau wie bei den EDX-Spektren, die in Madrid am HRTEM aufgenommen wurden, nur einen kleinen Phosphat- (0.2 mol-%) und keinen Calciumanteil. Abbildung 44 zeigt eine REM-Aufnahme und ein EDX-Spektrum der Kapseln nach der Dialyse.

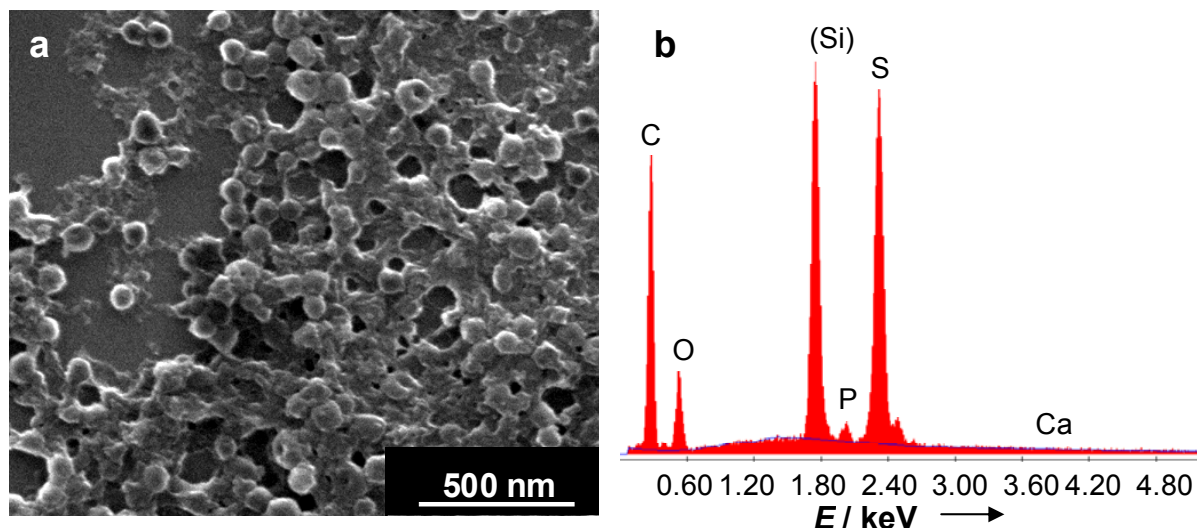


Abbildung 44: a REM-Aufnahme der Polymerkapseln nach der Dialyse; b EDX-Spektrum der entsprechenden Kapseln, der Siliciumanteil resultiert aus der Präparation der Kapseln auf einem Siliciumwafer.

Zusätzlich wurden AFM (*atomic force microscopy*)-Aufnahmen angefertigt. Abbildung 45 zeigt eine AFM-Aufnahme und das dazugehörige Höhenprofil entlang der in Abbildung 45a sichtbaren weißen Linie. Das Höhenprofil zeigt, dass die Kapseln eine Höhe von ca. 30 nm hatten und ca. 150 nm breit waren. Dies lässt darauf schließen, dass die Kapseln kollabiert vorlagen. Zusätzlich ist gut zu erkennen, dass jeder Peak im Höhenprofil am Maximum eine kleine Eindellung hat. Dies zeigt, dass die Kapseln in der Mitte aufgrund des ausgehöhlten Kerns weiter eingefallen waren als an den Rändern.

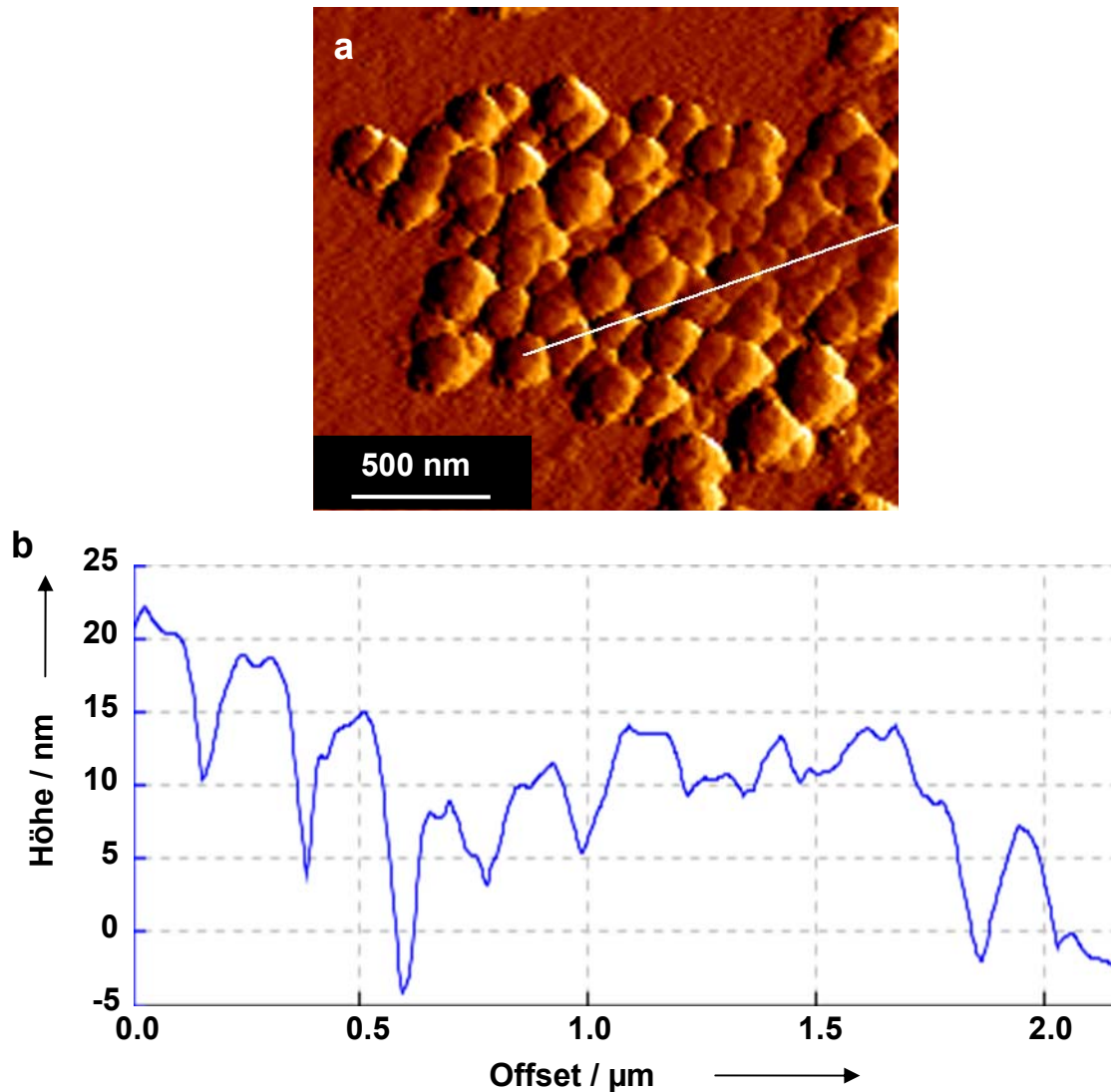


Abbildung 45: a AFM-Aufnahme der Polymernanokapseln; b Höhenprofil der AFM-Aufnahme entlang der weißen Linie in a.

Durch die angefertigten REM-, TEM- und AFM-Aufnahmen konnte die vollständige Entfernung des Calciumphosphat-Kerns nachgewiesen werden. Anschließend sollte der Versuch zur Befüllung der dargestellten Kapseln erfolgen. Es gibt grundsätzlich zwei in der Literatur beschriebene Strategien zur Befüllung von Mikro- bzw. Nanokapseln. Zum Einen gibt es die Möglichkeit, die Kapseln nach der Entfernung des Kerns durch Diffusionsprozesse zu beladen.^[115] Zum Anderen gibt es Ansätze, Substanzen vor der Auflösung des Kerns einzubringen oder zusammen mit dem Kern in der Kapsel einzuschließen.^[84,122,132] Die erste Methode wird durch die Möglichkeit zur Varianz der Permeabilität der Kapselwand ermöglicht. Möhwald et al. beschrieben, dass bei Erniedrigung des pH-Wertes auf 2 die Permeabilität einer

3. Ergebnisse und Diskussion

PAH/PSS-Kapselwand erhöht und bei Erhöhung des pH-Wertes auf über 8 wieder erniedrigt wird.^[115] Ein möglicher Grund für diesen Effekt liegt laut Antipov et al. im Protonierungsgrad der PAH-Kette.^[107,114] Bei einem pH-Wert von 7 sind nur ein Teil der Amin-Gruppen entlang der pH-Kette protoniert. Bei dem Übergang zu einem niedrigeren pH-Wert werden die Amin-Gruppen protoniert bis hin zu einem Protonierungsgrad von nahezu 1 bei einem pH-Wert von 3. Durch die Protonierung kommt es zur internen Streckung des PAHs, das ursprünglich innerhalb der Multischicht geknäult vorlag um 7 %.^[114] Durch die Streckung quillt die Multischicht auf und es entstehen Poren. Auf der anderen Seite liegt bei der Erhöhung des pH-Wertes auf 10 ein Protonierungsgrad von nahezu 0 für das PAH vor. Laut Antipov et al. kommt es dennoch nicht zur Desorption der PAH-Schichten. Die Beladung der Kapseln kann demnach im Säuren und der Einschluss der Substanz in der Kapsel im Basischen erfolgen. Ein Nachteil dieser Methode ist, dass die Diffusion der eingesetzten Substanz in die Kapsel nur so lange stattfindet, wie ein Konzentrationsgefälle zwischen Kapselinnerem und der umgebenen Lösung besteht. So muss der Einsatz an zu beladener Substanz sehr hoch sein um eine nennbare Befüllung zu erreichen. Bei der zweiten Methode wird die Einbringung von Substanzen in die Kapsel durch Adsorption an der Oberfläche des Templatkerns erreicht.^[84,122] Nachteil dieser Methode ist, dass die Oberfläche des Templatkerns im Verhältnis zum Volumen des Kapselinneren gering ist. Kommt zu der äußeren Oberfläche bei Einsatz von porösen Kapseltemplaten noch die innere Oberfläche, so ist die Beladungsmöglichkeit eindeutig besser.^[84,133] Da aber zum Herauslösen vieler Kerne drastische Maßnahmen ergriffen werden müssen, beschränkt sich die Beladung der Kapseln auf Substanzen, die entsprechende Maßnahmen unbeschadet überstehen.

In dieser Arbeit sollte ein Versuch zur Beladung der Hohlkapseln über Diffusionsprozesse unternommen werden. Zu diesem Zwecke wurde zuerst die Stabilität der Kapseln bei verschiedenen pH-Werten überprüft. Hierzu wurde zu einer Kapseldispersion mit Hilfe des Autotitrators von Malvern 0.01 M und 0.1 M HCl bzw. NaOH analoger Konzentrationen titriert. Nach jeder pH-Wert-Änderung wurden die Kapselgröße und das Zetapotential bestimmt. Abbildung 46 zeigt den typischen Verlauf einer pH-Titration bei Erhöhung des pH-Wertes.

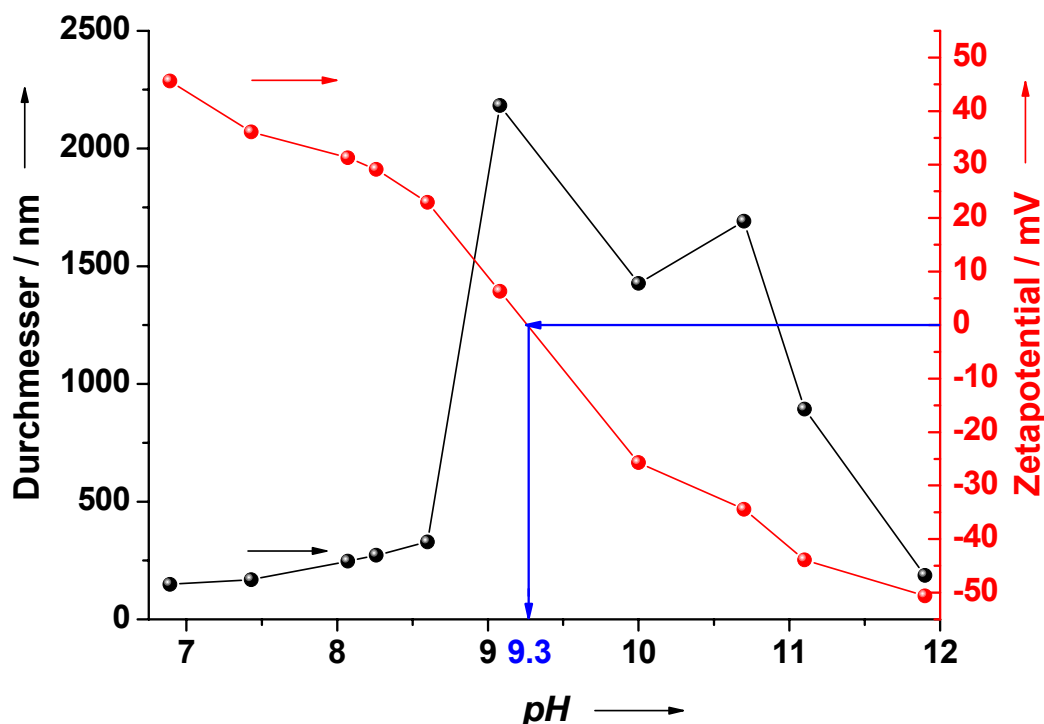


Abbildung 46: Verlauf der Kapselgröße und des Zetapotentials der dreischaligen Kapseln bei pH-Wert-Erhöhung; die blauen Pfeile kennzeichnen den isoelektrischen Punkt.

Der Kapseldurchmesser zum Beginn der Messung lag bei ca. 150 nm, das Zetapotential bei 46 ± 7 mV. Bei Erhöhung des pH-Wertes auf ca. 8.6 zeigten sich ein kontinuierlicher Abfall des Zetapotentials und ein kontinuierlicher Anstieg des Kapseldurchmessers. Dabei wurde die Größenverteilung breiter, was durch eine Erhöhung des PDI von 0.127 auf 0.277 deutlich wurde. Ab einem pH-Wert von 9.1 schienen die Kapseln zu agglomerieren. Der Durchmesser stieg dramatisch, wobei durch einen PDI von 1.0 ein Messfehler angezeigt wurde. Es ist davon auszugehen, dass es zu Agglomerationen kam. Bei weiterer Erhöhung des pH-Wertes kehrte sich das Vorzeichen des Zetapotentials um und stieg in den negativen Bereich. Dabei konnte ein isoelektrischer Punkt bei einem pH-Wert von 9.3 gefunden werden. Erst ab einem pH-Wert von 11.9 sank der PDI wieder auf 0.260. Die Größe der Kapseln betrug an diesem Punkt ca. 185 nm. Dieser Prozess ist nicht reversibel. Es ist demnach davon auszugehen, dass bei der Erhöhung des pH-Wertes die äußere PAH-Schicht deprotonierte und wahrscheinlich entgegen der Aussage von Antipov et al. von der Kapsel abgetrennt wurde. Bei der Erniedrigung des pH-Wertes wurde die PAH-Schicht nicht erneut adsorbiert. Das Zetapotential bleibt bei dieser pH-Wert-

3. Ergebnisse und Diskussion

Erniedrigung negativ bei ca. -40 mV. Da die Größe der resultierenden Kapseln bei hohem pH-Wert nicht denen der anfänglich eingesetzten Kapseln abzüglich 10-20 nm für die abgetrennte äußere PAH-Schicht entsprachen, ist davon auszugehen, dass die zweischaligen Kapseln instabil sind. Es trat vermutlich auch eine Deprotonierung der inneren PAH-Schicht ein, wodurch die Kapseln auf lange Sicht zerstört wurden.

In einem weiteren Versuch wurden die dreischaligen dialysierten Kapseln bei pH-Wert-Erniedrigung untersucht. Abbildung 47 zeigt diesen Verlauf.

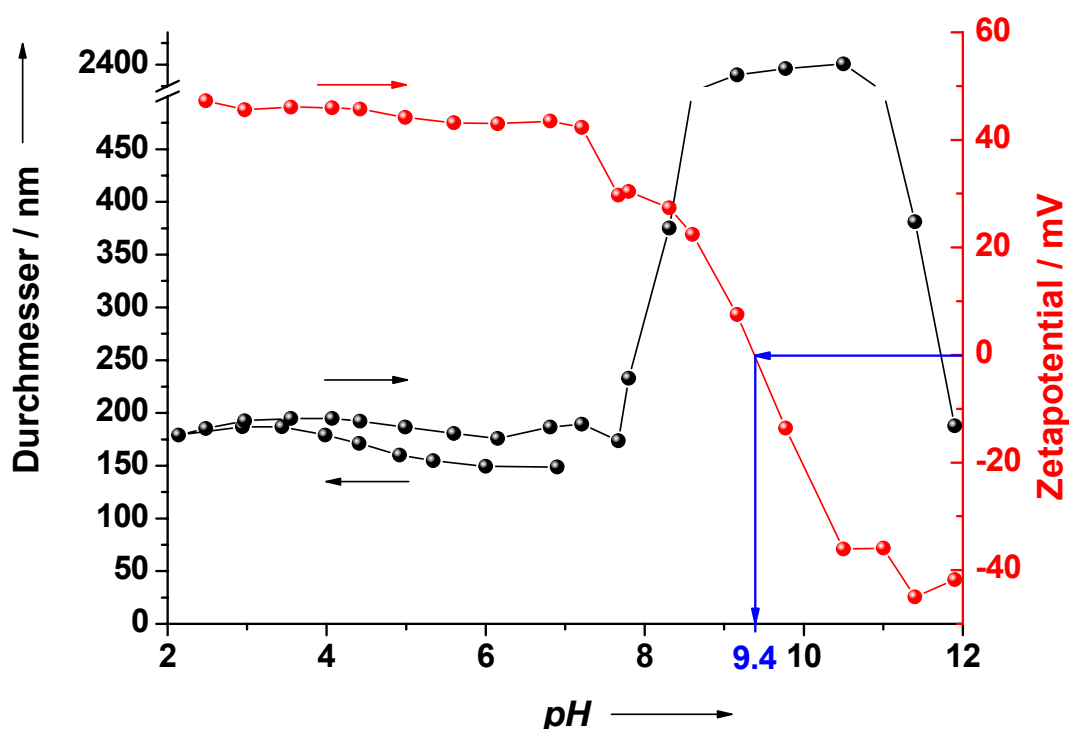


Abbildung 47: Verlauf der Kapselgröße und des Zetapotentials bei pH-Wert-Erniedrigung und anschließender pH-Wert-Erhöhung; die blauen Pfeile kennzeichnen den isoelektrischen Punkt.

Zunächst wurde der pH-Wert von anfänglichen 6.5 auf 2.1 erniedrigt. Dabei stieg die Kapselgröße von ca. 150 nm auf 175 nm. Dieses Verhalten war durch die von Antipov et al. beschriebene Quellung der PAH-Schicht bei niedrigen pH-Werten erwartet. Der PDI und damit die Größenverteilung änderten sich nicht signifikant. Bei anschließender Erhöhung des pH-Wertes auf ca. 6.5 sank der Durchmesser der Kapseln nicht mehr auf den Ursprungswert, sondern stieg auf 185 nm. Die Quellung war somit nicht reversibel. Das Zetapotential blieb während dieser pH-Wert-Variation

im Rahmen der Standardabweichungen gleich bei ca. 45 mV. In Abbildung 47 ist der Übersichtlichkeit halber nur der Verlauf des Zetapotentials bei pH-Wert-Erhöhung dargestellt. Bei weiterer Erhöhung des pH-Wertes trat wiederum eine Umkehr des Zetapotentials in den negativen Bereich ein. Der isoelektrische Punkt lag ähnlich wie bei der ersten Messung bei pH 9.4. Der Übergang war wie bei der ersten Messung begleitet von der zeitweiligen Polydispersität der Kapseln. Bei einem pH-Wert von 11.9 wurden zweischalige Kapseln mit einer Größe von ca. 188 nm erhalten. Die durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass es nicht möglich sein wird, die Kapseln zu befüllen bzw. eine Substanz in den Kapseln einzuschließen. Augenscheinlich tritt eine Quellung der Kapseln bei dem Übergang zu niedrigen pH-Werten ein, vermutlich bilden sich Poren. Die Quellung ist aber nicht reversibel, sodass zu vermuten ist, dass die Poren nicht mehr geschlossen werden. Bei dem Übergang zu höheren pH-Werten tritt dagegen eine Desorption der äußeren Schicht ein. Drei Polymerschichten reichen anscheinend aus, um eine stabile Kapsel bei einem pH-Wert von ca. 7 aufzubauen; für eine Befüllung und die damit verbundene pH-Variation sind sie scheinbar zu instabil. Ein Aufbau von mehr als drei Polymerschichten war bis zu diesem Zeitpunkt nicht möglich, da es beim Versuch zur Auftragung einer weiteren PSS-Schicht zu Agglomerationen kam.

3.3.3 Experimenteller Aufbau

In eine Wasservorlage von 20 mL wurden jeweils 5 mL einer Calciumlactat-, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ - und PAH-Lösung gegeben. Die Konzentrationen der Lösungen sind Tabelle 9 zu entnehmen. Die Zugabe erfolgte innerhalb einer Minute über eine Peristaltikpumpe bei einer Pumpengeschwindigkeit von 5 mL min^{-1} . Die entstehende Dispersion wurde 15 Minuten langsam gerührt. 2.5 mL der PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden auf 100 mL Wasser gegeben. Nacheinander wurden 2 mL PSS- und 1 mL PAH-Lösung hinzu gegeben. Sämtliche Zugaben verliefen in 1 mL Schritten. Nach jeder Zugabe wurden eine Größenbestimmung und Zetapotentialmessung durchgeführt. Zwischen den einzelnen Zugaben lagen jeweils 15 Minuten.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 9: Konzentrationsangaben der zur Darstellung der Nanokapseln verwendeten Chemikalien.

Lösung	c	pH	Bemerkung
Calciumlactat	18 mmol L ⁻¹	6.8	pH unverändert
(NH ₄) ₂ HPO ₄	10.8 mmol L ⁻¹	7.7	pH unverändert
PAH (M=70 kg mol ⁻¹)	2 g L ⁻¹	7.2	pH von 4.3 auf 7.2 mit KOH (c = 5 mol L ⁻¹) erhöht, PAH wird in 0.5 M (29.2 g L ⁻¹) NaCl gelöst
PSS (M=70 kg mol ⁻¹)	2 g L ⁻¹	8.5	pH von 7 auf 8.5 mit KOH (c = 5 mol L ⁻¹) erhöht, PSS wird in 0.5 M (29.2 g · L ⁻¹) NaCl gelöst

Anschließend wurde die Dispersion, bestehend aus dreischaligen Calciumphosphat-Nanopartikeln, mit 0.5 M HCl auf einen pH-Wert von 2-2.5 gebracht und für einen Tag stehen gelassen. Nach einem Tag wurden 50 mL der Dispersion in einen Dialyseschlauch (Roth, Nadir[®], Porengröße 25-30 Å) gegeben. Dieser wurde in ein Becherglas mit 2 L Reinstwasser gegeben, das 7.5 g eines als Granulat vorliegenden Kationentauschers (Serva, Serdolit Rot) enthielt. Die Dialyse wurde unter langsamen Rühren und pH-Kontrolle durchgeführt. Tabelle 10 zeigt den typischen pH-Verlauf einer derartigen Dialyse. Dabei zeigt der Zeitpunkt 0 den pH-Wert des Wassers mit 7.5 g des Kationentauscher an.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 10: pH-Verlauf der Dialyse der dreischaligen Calciumphosphat-Nanopartikel gegen einen Kationentauscher.

Zeit / min	pH	Zeit / min	pH
0	5.1	10	4.2
1	4.8	20	3.9
2	4.6	30	3.8
3	4.6	40	3.7
4	4.5	50	3.6
5	4.4	60	3.5
6	4.4	120	3.1
7	4.3	180	2.9
8	4.3	240	2.7
9	4.3	nach 1 Tag	3.0

Nach einem Tag wurde der Dialyseschlauch mit Reinstwasser abgespült und in ein weiteres Becherglas gegeben, das 2 L Wasser mit 7.5 g ebenfalls als Granulat vorliegendem Anionentauscher (Serva, Serdolit Blau) enthielt. Tabelle 11 zeigt den pH-Verlauf. Am Zeitpunkt 0 ist der pH-Wert des Wassers mit 7.5 g des Anionentauschers angegeben.

Tabelle 11: pH-Verlauf der Dialyse der dreischaligen Calciumphosphat-Nanopartikel gegen einen Anionentauscher

Zeit / min	pH	Zeit / min	pH
0	7.7	8	8.1
1	7.9	9	8.1
2	8.0	10	8.1
3	8.0	20	8.1
4	8.0	30	8.3
5	8.0	40	8.4
6	8.0	50	8.4
7	8.1	60	8.4

Nach den Dialysen wurde die Nanokapseldispersion aus dem Dialyseschlauch genommen und konnte weiterverwendet werden.

3.3.4 Zusammenfassung

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, Calciumphosphat-Nanopartikel als Template zur Synthese von Polymernanokapseln zu verwenden. Dabei wurden zunächst Calciumphosphat-Nanopartikel durch eine kontinuierliche Fällungsreaktion dargestellt. Die Partikel wurden während der Fällung gleichzeitig mit PAH funktionalisiert. Eine weitere PSS- und PAH-Schicht wurde nach der *LbL*-Methode aufgetragen und die Adsorption der Polymere durch Zetapotentialmessungen verfolgt. Die Bestimmung der Schichtdicken der einzelnen Schichten konnte durch DLS-Messung realisiert werden. Der Calciumphosphat-Kern wurde durch pH-Wert-Erniedrigung und einer Dialyse mit Einsatz von Ionenaustauschern herausgelöst. Abbildung 48 zeigt den schematischen Ablauf der Darstellung der Nanokapseln.

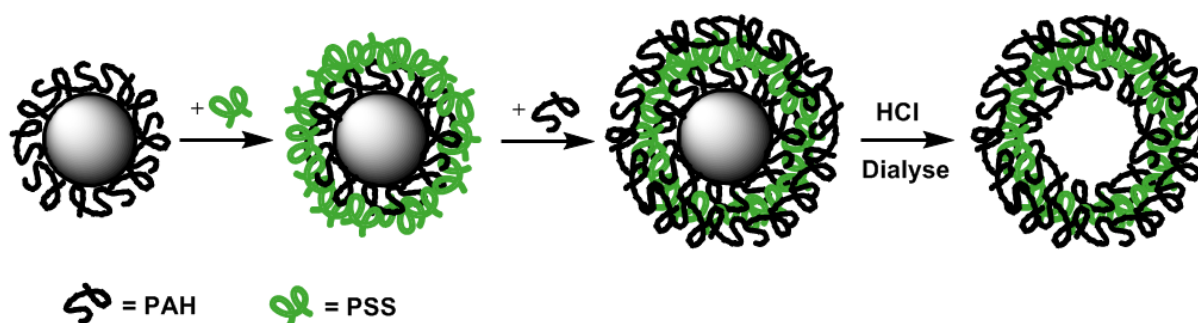


Abbildung 48: Schematische Darstellung der Kapselsynthese nach der *LbL*-Technik.

Die entstandenen Kapseln wurden eingehend durch REM-, TEM und AFM-Aufnahmen charakterisiert. EDX-Spektren belegten die vollständige Entfernung des Calciumphosphat-Kerns. Durch eine Stabilitätsstudie der Kapseln bei verschiedenen pH-Werten konnte gezeigt werden, dass die Kapseln für eine Befüllung nicht geeignet sind. Zur Befüllung der Kapseln müssten wahrscheinlich weitere Polymerschichten aufgetragen werden, was aufgrund von Agglomerationserscheinungen nicht realisiert werden konnte.

3.4 Calciumphosphat-Nanopartikel als Wirkstoffträger in der Photodynamischen Therapie

3.4.1 Einführung in die Thematik und Aufgabenstellung

Die Photodynamische Therapie (PDT) ist eine medizinische Behandlungsmethode, bei der eine photoaktive Substanz, der Photosensibilisator, in den menschlichen Organismus eingeführt und durch Laserlicht einer bestimmten Wellenlänge angeregt wird.^[134] Durch die Anregung dieses Photosensibilisators wird bei Gegenwart von molekularem Sauerstoff über verschiedene Energiezustände die Bildung von Singulett-Sauerstoff induziert.^[135] Abbildung 49 zeigt eine schematische Darstellung der bei der Anregung eines Photosensibilisators ablaufenden Energieübergänge.

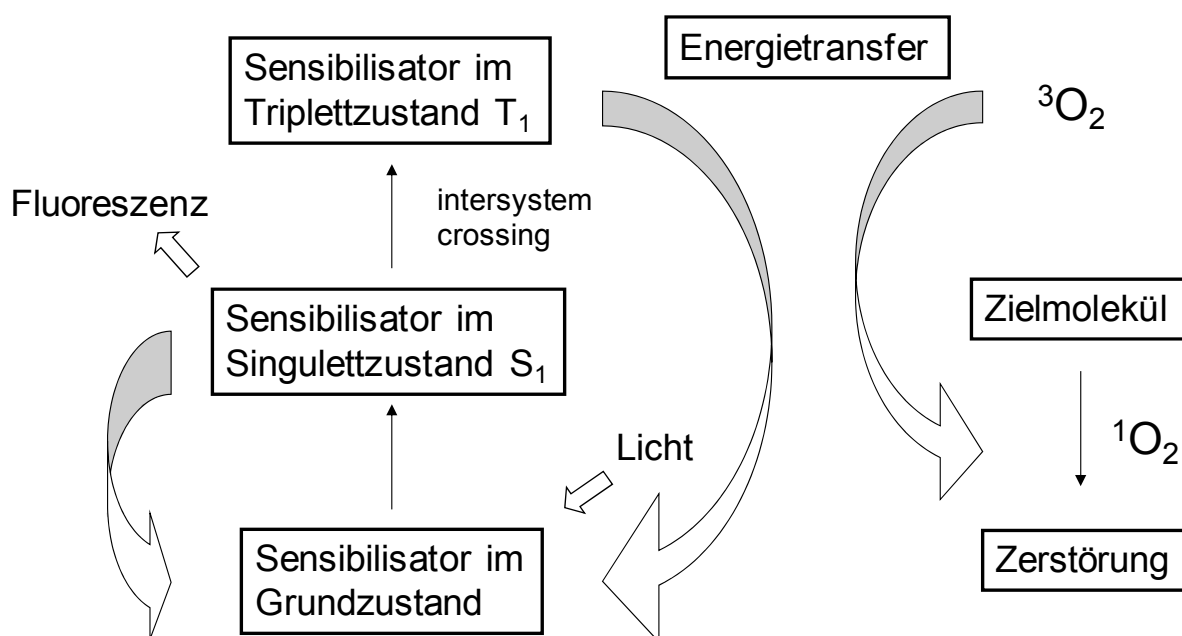


Abbildung 49: Schematische Darstellung der Energieübergänge bei der photodynamischen Aktivierung eines Photosensibilisators.

Der Sensibilisator im Grundzustand wird von Licht bestimmter Wellenlänge angeregt und geht in den ersten angeregten Singulettzustand über. Nun besteht die Möglichkeit, dass er unter Abgabe der Energie in Form von Fluoreszenz wieder in den Grundzustand fällt oder durch das Spin-verbotene *intersystem crossing* in den Triplettzustand übergeht. Von dort aus kann ein Energietransfer auf den im biologischen Gewebe vorhandenen molekularen Sauerstoff stattfinden. Ist die zu übertragende Energie ausreichend, so geht der Triplett-Sauerstoff in den hoch

3. Ergebnisse und Diskussion

oxidierend wirkenden Singulett-Sauerstoff über und kann in dieser Form verschiedenste Zellbestandteile wie Zellplasma, Mitochondrien und Zellmembranen oxidieren und damit irreversibel schädigen.^[136,137] Der Sensibilisator selbst geht dabei wieder in den Grundzustand über und kann so erneut angeregt werden.

Der wohl erste geschichtlich festgehaltene Einsatz der PDT ist um das Jahr 1400 vor Christus datiert. Dort wurden im alten Ägypten verschiedene Hautkrankheiten mit Pasten aus Pflanzenextrakten, die den Wirkstoff 8-Methoxypsoralen enthielten, behandelt.^[138] Dieser photoaktive Wirkstoff ist heute unter dem Namen Meladinine[®] bekannt und wird zur Behandlung von Schuppenflechte eingesetzt.^[139] Die erste Dokumentation des tatsächlichen photodynamischen Effektes wurde im Jahre 1900 von Oscar Raab publiziert, der feststellte, dass eine bestimmte Einzellerart bei Behandlung mit Acridin bei Tageslicht starb, aber im Dunkeln überlebte.^[140] Vier Jahre später wurde von Herman von Tappeiner die Erforderlichkeit von Sauerstoff für den Ablauf einer photodynamischen Reaktion erkannt.^[141] In den kommenden Jahrzehnten wurden mehrere Farbstoffe als photodynamisch aktiv spezifiziert, wobei die Tetrapyrrol-Verbindungen wahrscheinlich am ausführlichsten untersucht wurden. Abbildung 50 zeigt jeweils ein Beispiel dieser Farbstoffe: a) Acridine^[142], b) Phenothiazine^[143], c) Xanthene^[144], d) (Phtalo-)Cyanine^[145], e) Porphyrine^[146] und f) (Bakterio-)Chlorine.^[147] Im Jahre 2003 wurden selbst *Quantum Dots* als potentielle Photosensibilisatoren vorgestellt.^[148,149]

3. Ergebnisse und Diskussion

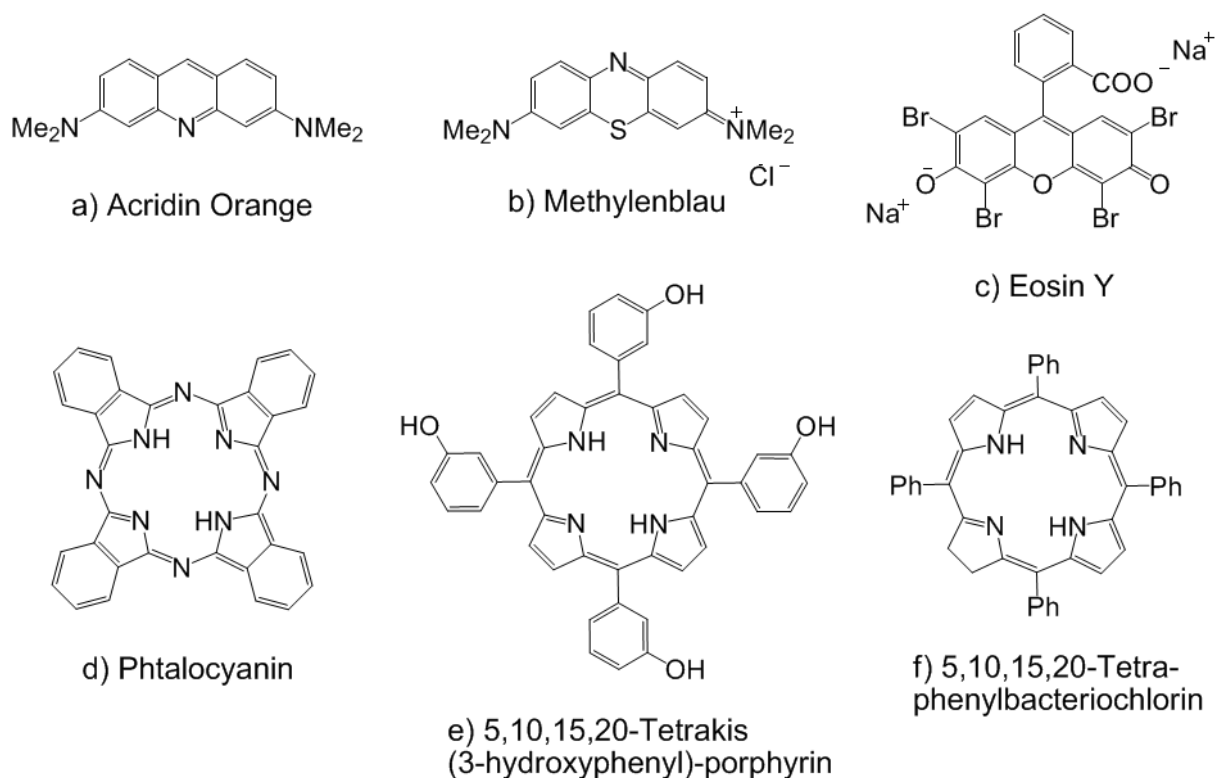


Abbildung 50: Beispiele für sechs als photodynamisch aktiv eingestufte Farbstoffklassen: a Acridine, b Phenotiazine, c Xanthene, d (Phtalo-)cyanine, e Porphyrine, f (Bakterio-)chlorine.

Die photodynamische Aktivität ist nicht auf einzelne Strukturtypen beschränkt, sondern setzt die Erfüllung folgender Bedingungen^[134] voraus:

- Der Farbstoff muss im Bereich des sichtbaren Lichts absorbieren.
- Der angeregte Triplettzustand des Farbstoffes muss effizient durch „intersystem crossing“ erreicht werden.
- Die Triplettenergie des Farbstoffes muss größer, aber nicht viel größer, als 94 kJ mol^{-1} sein, da dies der Energiedifferenz zwischen Singulett- und Triplett-sauerstoff entspricht.
- Sollte der Farbstoff aggregieren, so ist die Monomer-Form vorzuziehen, da diese ein schärferes Absorptionsspektrum zeigt und die in der PDT effizientere Spezies ist.

Die Anwendungsgebiete der PDT sind breit aufgestellt. Die Grundvoraussetzung für einen erfolgversprechenden Einsatz dieser Therapie ist ein Krankheitsbild, das ein

3. Ergebnisse und Diskussion

unkontrolliertes Wachstum von Gewebe mit eigener Gefäßstruktur zeigt.^[150] Da besonders ein Krebstumor diese Eigenschaft besitzt, ist die Anwendung der PDT in der Krebstherapie von gesteigertem Interesse. 1993 wurde die PDT erstmals offiziell von der „Health Agency“ in Kanada als Behandlungsmethode für Blasenkrebs anerkannt.^[151] Es folgten erste Behandlungserfolge bei Speiseröhrenkrebs^[152], Hautkrebs^[153], Lungenkrebs^[154], Kopf-Hals-Krebs^[155], Brustkrebs^[156], Darmkrebs^[157] und Hirnkrebs.^[158] Neben der Behandlung von Karzinomen wird die PDT auch bei der Makuladegeneration^[145] und bei Rheuma^[159] eingesetzt.

Ein ganz anderer Ansatz ist die antibakterielle Anwendung der PDT. Es hat sich gezeigt, dass die PDT auch bei der Behandlung von Krankheiten, die durch pathogene Keime hervorgerufen werden, wirksam ist.^[160,161] So ist es denkbar, dass Photosensibilisatoren in Zukunft als Antibiotika-Ersatz zur Behandlung von Infektionen eingesetzt werden können.^[162,163] Die Problematik der Antibiotika-Resistenzen und auch Antibiotika-Allergien könnte auf diesem Wege gelöst werden.^[164,165] Für dieses Einsatzgebiet haben sich besonders die Photosensibilisatoren der Substanzklassen der Phenotiazine und der Xanthene (Abbildung 50) bewährt.^[166] Besonders im Bereich der Dentalmedizin wird der Einsatz der Photodynamischen Antimikrobiellen Chemotherapie (PACT) erforscht.^[167] Trotz all dieser bereits erfolgreichen Anwendungsmöglichkeiten weist die PDT entscheidende Nachteile auf. Zum Einen sind die zurzeit eingesetzten Photosensibilisatoren weitestgehend lipophil, was die Wasserlöslichkeit und damit die Bioverfügbarkeit entscheidend beeinträchtigt. Dies hat zur Folge, dass die Photosensibilisatoren in alkoholischen Lösungen injiziert werden müssen.^[136] Diese sind sehr schmerzhaft für den Patienten. Zum Anderen ist die PDT weitestgehend unselektiv. Die Selektion wird durch die hohe Fokussierung des Lasers erreicht. Der Photosensibilisator wird in den Körper je nach Art der Erkrankung intravenös appliziert oder auf die Haut aufgetragen. Anschließend verteilt er sich im Organismus, und nur an der bestrahlten Stelle wird Singulett-Sauerstoff mit einer Lebensdauer von ca. 2 μ s erzeugt.^[168] Problematisch hierbei ist, dass der Patient sich nach Abschluss der Behandlung für mehrere Wochen nicht der Sonne aussetzen darf. Durch das Sonnenlicht würde der sich noch im Organismus befindliche Photosensibilisator völlig unselektiv gesundes Gewebe zerstören. Die lange Akkumulation des Farbstoffes im Organismus ist wiederum in der Lipophilie der Farbstoffe begründet, die sich z.B. in Zellmembranen anreichern.^[169] Einen

3. Ergebnisse und Diskussion

gewissen Grad an Selektion wird im Falle der Tumorthherapie durch den sogenannten *enhanced permeability and retention*-Effekt (EPR) erreicht (Abbildung 51). Dieser Effekt wurde erstmals 1986 publiziert und beschreibt die Anreicherung nanoskaliger Systeme in Tumorgewebe.^[170] Dabei basiert der EPR-Effekt auf der gesteigerten Durchlässigkeit der Blutgefäße im Tumorgewebe (*enhanced permeability*) und auf der verstärkten Anreicherung der nanoskaligen Systeme durch das mangelnde Lymphsystem im Tumorgewebe (*enhanced retention*).^[171] Der Grund für die gesteigerte Durchlässigkeit der Blutgefäße ist die Diskontinuität der Epithelzellen in den Gefäßen des tumorösen Gewebes. Ein intravenös applizierter Photosensibilisator kann so in das Tumorgewebe eindiffundieren und dort akkumulieren. Für den Photosensibilisator 5,10,15,20-Tetrakis(m-hydroxyphenyl)chlorin wurde von Selektionsraten von bis zu 14:1 gegenüber gesundem Gewebe berichtet.^[172] Dem gegenüber stehen die Selektionsraten von Polymermizellen und Liposomen mit bis zu 70:1.^[171]

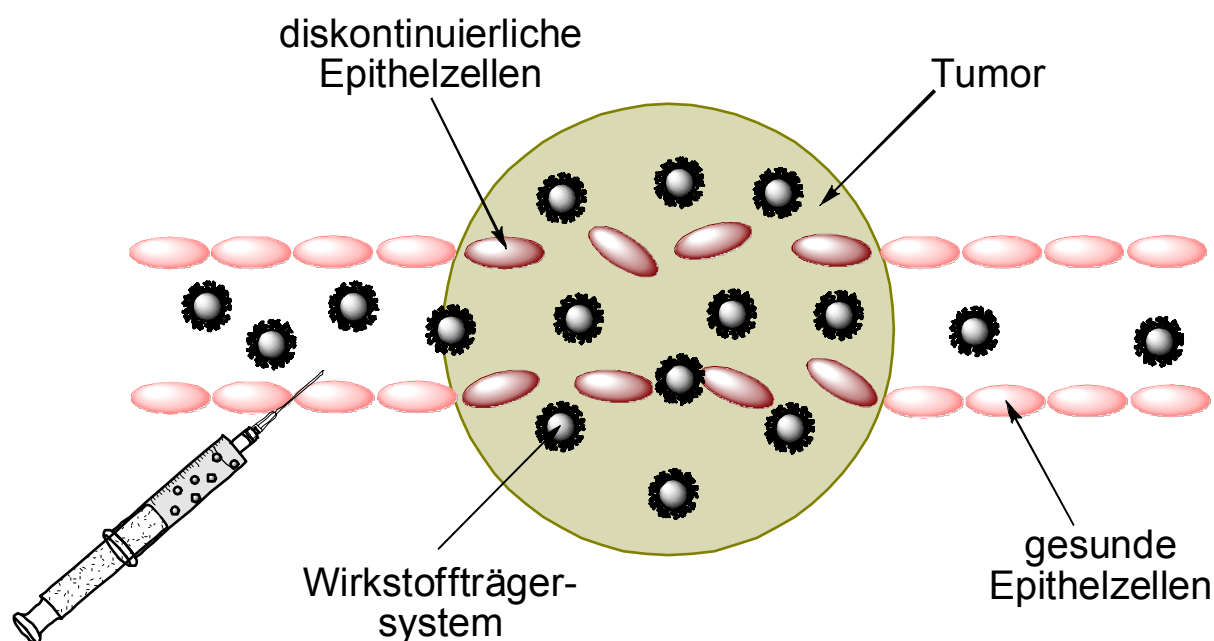


Abbildung 51: Schematische Darstellung des EPR-Effektes in tumorösem Gewebe.

Durch diesen erheblichen Unterschied der Selektionsraten erklärt sich das gesteigerte Interesse der Krebsforschung an der Entwicklung geeigneter Wirkstoffträgersysteme, auch für die PDT. Es wurden bereits Photosensibilisatoren in Kombination mit Liposomen^[173], ölbasierte Dispersionen bzw. Mizellsystemen^[174]

3. Ergebnisse und Diskussion

entwickelt und auch klinisch getestet. Liposomen-Trägersysteme zeigen eine erhöhte Aufnahme im Tumorgewebe gegenüber freiem Photosensibilisator, allerdings sind die erreichbaren Beladungseffizienzen niedrig.^[136] Die Mizellsysteme werden ebenfalls gegenüber dem freien Photosensibilisator besser vom Tumorgewebe aufgenommen, aber es wird in der Literatur auch von erheblichen Nebenwirkungen wie akuten Hypersensibilisierungsreaktionen (anaphylaktische Schock-Zustände) berichtet.^[175] Ein weiterer Ansatz ist die Anbindung von Photosensibilisatoren an Nanopartikel. Dabei kann zwischen drei Arten von Nanopartikeln unterschieden werden:

- Polymer-Nanopartikel
- Metallische Nanopartikel
- Keramische Nanopartikel

In der Literatur sind zahlreiche Publikationen bezüglich polymerbasierter Nanopartikel als Wirkstoffträger für die PDT vertreten, wobei biodegradierbare Polymere bevorzugt verwendet werden.^[176,177] Als Beispiel sei ein System genannt, das großes Potential unter den Polymer-Nanopartikeln zur Anwendung in der PDT zeigt. Dabei handelt es sich um Nanopartikel bestehend aus Poly(D,L-lactid-co-glycolid) mit einer Beladungseffizienz von 8 % bezüglich des Photosensibilisators meso-Tetra(hydroxyphenyl)porphyrin.^[178] Ein allgemeiner Nachteil polymerbasierter Partikel ist, dass sie zur Aggregation neigen.^[179]

Erstmals wurden 2002 metallische Nanopartikel als Wirkstoffträger für die PDT in Erwägung gezogen. Es handelte sich hierbei um Gold-Nanopartikel mit einer Partikelgröße von 2-4 nm.^[180] 2008 wurde von einem ersten *in vivo*-Test an Mäusen berichtet.^[181] Die Vorteile von Gold-Nanopartikeln bzw. metallischen Nanopartikeln liegen eindeutig bei der extrem kleinen Größe und damit enorm großen spezifischen Oberfläche der Partikel. Die große Oberfläche begünstigt eine hohe Beladung mit Photosensibilisatoren. Ein erheblicher Nachteil dieser Partikel ist, dass sie nicht biodegradierbar sind, und dass unklar ist, wie und ob sie den Körper wieder verlassen.

Der wohl bisher vielversprechendste Ansatz zur Darstellung eines geeigneten Wirkstoffträgersystems ist der über keramische Nanopartikel wie porösen SiO₂-Partikel.^[182] Poröse SiO₂-Nanopartikel besitzen gegenüber polymerbasierten Nanopartikeln verschiedene Vorteile. Sie sind wasserlöslich bzw. im wässrigen Medium handhabbar, biokompatibel^[183] und werden nicht von Mikroorganismen

angegriffen.^[184] Photosensibilisatoren können an organisch modifizierten SiO₂-Partikeln kovalent gebunden werden. Die Wirksamkeit dieser Systeme basiert demnach nicht auf der Freisetzung des Wirkstoffs im Gewebe, sondern auf der Diffusion des molekularen Sauerstoffs und Singulett-Sauerstoffs durch die poröse Matrix der Partikel.^[183] Durch die geringe Lebensdauer des Singulett-Sauerstoffs (2 μ s), der erst durch den Partikel diffundieren muss, um das Zielgewebe zu erreichen, kann es zu einer Abschwächung der Wirksamkeit gegenüber Systemen, bei denen der Photosensibilisator an der Oberfläche lokalisiert ist, kommen.^[179]

In diesem Kapitel werden polymerfunktionalisierte Calciumphosphat-Nanopartikel als neues Trägersystem für die PDT untersucht. Calciumphosphat zeichnet sich durch seine hervorragende Biokompatibilität und Biodegradierbarkeit aus und ist bereits in der Literatur als sehr effektives Trägermaterial für DNA bekannt.^[24] Es ist demnach davon auszugehen, dass Calciumphosphat-Nanopartikel durchaus für die Anwendung als Wirkstoffträger für die PDT geeignet sind.^[185,186]

3.4.2 Experimenteller Aufbau

Dieses Kapitel beschäftigt sich mit der Darstellung verschieden funktionalisierter Calciumphosphat-Nanopartikel und deren Beladung mit den Photosensibilisatoren Methylenblau (MB) und 5,10,15,20-Tetrakis(3-hydroxyphenyl)porphyrin (*m*THPP). Alle Ansätze wurden in Reinstwasser angefertigt, und alle erhaltenen Partikel wurden eingehend bezüglich ihrer Größe, Zetapotential, Zusammensetzung und ihrer photodynamischen Aktivität untersucht. Die genauen Parameter der einzelnen Fällungen können Tabelle 12 entnommen werden. Dabei wurden zur Fällung der Calciumphosphat-Nanopartikel jeweils 5 mL einer Calciumlactat-Lösung (18 mM) und 5 mL einer Diammoniumhydrogenphosphat-Lösung (10.8 mM) verwendet. Diese Lösungen wurden zusammen mit einer Polymerlösung über zwei Peristaltikpumpen (Pumpengeschwindigkeit 5 mL min⁻¹) in eine Wasservorlage gegeben. Alle Lösungen wurden zuvor mit Ammoniak auf pH 10 eingestellt.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 12: Versuchsparameter der Fällung und Umladung von Polymer-funktionalisierten und Farbstoff-beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel

Polymer	c(Polymer) [g L ⁻¹]	V(Polymerlsg.) [mL]	pH	Wasservorlage [mL]	eingesetzter Farbstoff	pH Disp.
PSS	2	10	10	20	Methylenblau	9.3
PSS	2	10	10	20	<i>m</i> THPP	9.4
PAH	4	1:1 Dispersion	7.5	-	<i>m</i> THPP	8.5
CMC	2	5	10	20	<i>m</i> THPP	9.3
PEI	2	1:8 Dispersion	10.4	-	<i>m</i> THPP	8.8

3.4.2.1 Darstellung von mit PSS funktionalisierten und mit Methylenblau beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln

Die Darstellung der PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel erfolgte wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben. Eine Minute nach der Calciumphosphat-Fällung wurden 2-5 mL (verschieden Ansätze) einer Lösung des Photosensibilisatorfarbstoffs Methylenblau (MB) ($c = 0.003 \text{ M}$, pH 5.6) hinzugegeben. Die Partikeldispersion wurde durch zweimalige Ultrazentrifugation (30 min bei 150000 g) und Redisperion in Reinstwasser aufgereinigt. Die Partikeldispersionen und auch die Zentrifugationspellets zeigten eine homogene blaue Färbung. Die Ausbeute an CaP/PSS/MB-Partikeln betrug ca. $265 \pm 10 \text{ mg / L}$. Die Konzentration an Calciumphosphat-Nanopartikeln ohne Polymer und Farbstoff in der aufgereinigten Dispersion betrug $189 \pm 10 \text{ mg L}^{-1}$ und wurde berechnet über:

$$m(\text{Ausbeute}_{\text{CaP/PSS/MB}}) \cdot w(\text{mineralischer Anteil}) = m(\text{Ausbeute}_{\text{CaP}}) \quad \text{Gleichung 24}$$

Der Farbstoffgehalt an den Partikeln wurde mit Hilfe der UV-Spektroskopie bestimmt. Hierzu wurden wässrige MB-Lösungen bekannter Konzentration vermessen und eine Kalibrationsgerade für die Absorption bei 664 nm aufgenommen (Abbildung 52). Über die ermittelte Geradengleichung konnte anschließend die Farbstoffmenge an den Partikeln bestimmt werden.

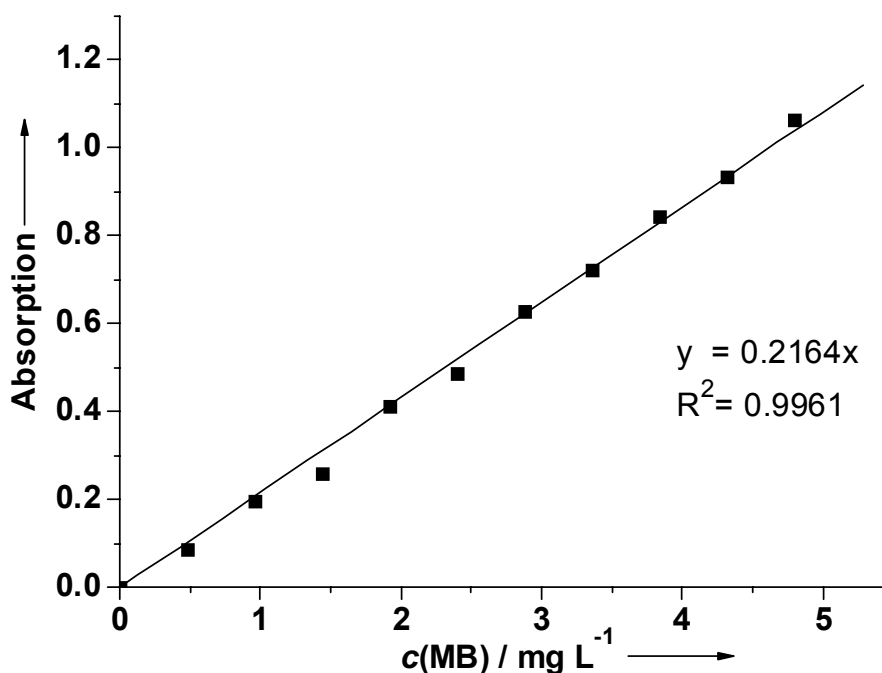


Abbildung 52: UV-Messungen definierter MB-Konzentrationen in Reinstwasser zur Ermittlung einer Kalibrationsgeraden für die Bestimmung der MB-Konzentration an den PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln

Die photodynamische Aktivität der Partikel wurde in Kooperation mit der Firma *biolitec AG* an den Bakterienkulturen *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativ) und *Staphylococcus aureus* (Gram-positiv) getestet.

3.4.2.2 Darstellung von mit PSS funktionalisierten und mit 5,10,15,20-Tetrakis(hydroxyphenyl)porphyrin beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln

Die Darstellung der PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel erfolgte wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben. Eine Minute nach der Fällung wurden 1-5 mL (verschiedene Ansätze) einer Lösung des Photosensibilisatorfarbstoffs 5,10,15,20-Tetrakis(hydroxyphenyl)porphyrin (*mTHPP*) in 2-Propanol ($c = 1.5 \text{ mM}$) hinzugegeben. Die Partikeldispersion wurde vier Tage unter Lichtausschluss gelagert und anschließend durch zweimalige Ultrazentrifugation (30 min bei 66000 g) und Redisperion in Reinstwasser aufgereinigt. Die Partikeldispersionen und auch die Zentrifugationspellets zeigten eine homogene tiefrote Färbung. Die Ausbeute an CaP/PSS/*mTHPP*-Partikeln betrug ca. $265 \pm 10 \text{ mg / L}$.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Konzentration an Calciumphosphat-Nanopartikeln ohne Polymer und Farbstoff in der aufgereinigten Dispersion betrug $191 \pm 10 \text{ mg L}^{-1}$ und wurde berechnet über:

$$m(\text{Ausbeute}_{\text{CaP/PSS}/m\text{THPP}}) \cdot w(\text{mineralischer Anteil}) = m(\text{Ausbeute}_{\text{CaP}})$$

Gleichung 25

Der Farbstoffgehalt an den Partikeln wurde mit Hilfe der UV-Spektroskopie bestimmt. Hierzu wurden wässrige PSS-Lösungen (0.4 mg L^{-1}) mit definierten Konzentrationen an *m*THPP vermessen und eine Kalibrationsgerade für die maximale Absorption bei 422 nm aufgenommen (Abbildung 53). Über die ermittelte Geradengleichung konnte anschließend die Farbstoffmenge an den Partikeln bestimmt werden.

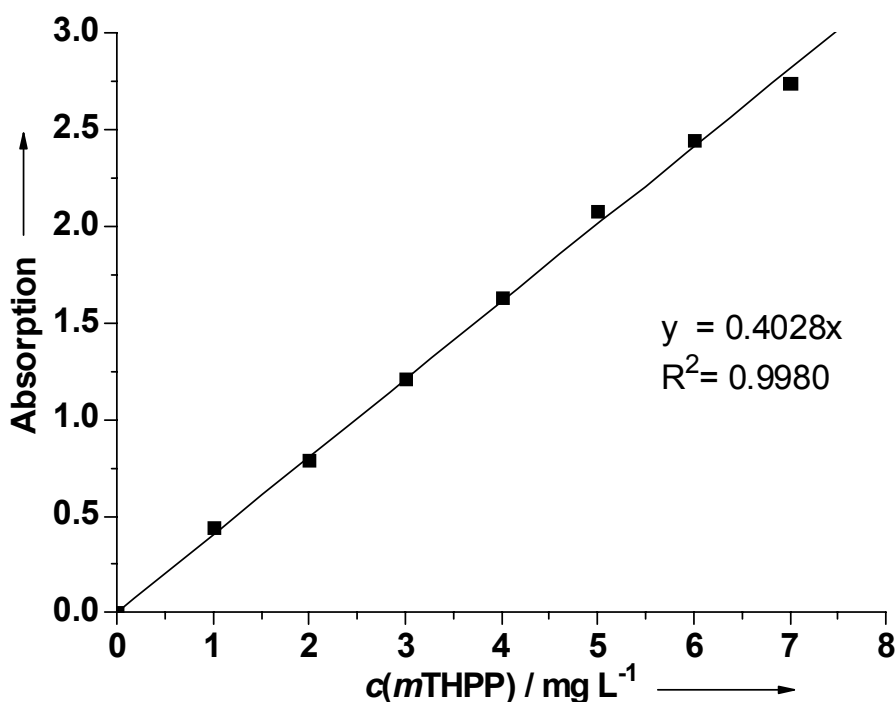


Abbildung 53: UV-Messungen definierter *m*THPP-Konzentrationen in PSS-Lösung zur Ermittlung einer Kalibrationsgeraden für die Bestimmung der *m*THPP-Konzentration an den PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln.

Die photodynamische Aktivität der Partikel wurde in Kooperation mit der Firma *biolitec AG* an den Bakterienkulturen *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativ) und *Staphylococcus aureus* (Gram-positiv) und drei verschiedene Zellkulturen (Krebszellen, Synoviozyten, Makrophagen) getestet.

3.4.2.3 Umladung der Partikeloberfläche von mit PSS funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln

Die Partikeloberfläche konnte durch Zugabe eines positiven Polyelektrolyten umgeladen werden (s. Kapitel 3.3). Die nach der Aufreinigung erhaltene mit PSS funktionalisierte und mit *m*THPP beladene Calciumphosphat-Partikeldispersion wurde im Verhältnis 1:1 mit einer PAH-Lösung (4 g L^{-1} , pH 7.5) versetzt. Die Partikel wurden durch Ultrazentrifugation (30 min bei 66000 g) und Redispersion in Reinstwasser aufgereinigt. Die Konzentration an Calciumphosphat-Nanopartikeln in der aufgereinigten Dispersion betrug $95 \pm 5 \text{ mg L}^{-1}$. Der Farbstoffgehalt wurde ebenfalls über UV-Spektroskopie bestimmt.

3.4.2.4 Darstellung von mit CMC-funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln

Die Darstellung der CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel erfolgte bezüglich der Konzentrationen der einzelnen Lösungen wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben. 0.25-1 mL (verschiedene Ansätze) des Photosensibilisatorfarbstoffs 5,10,15,20-Tetrakis(hydroxyphenyl)porphyrin (*m*THPP) in 2-Propanol ($c = 1.5 \text{ mM}$) wurde vor der Calciumphosphat-Fällung der Phosphatkomponente zugemischt. Die Partikeldispersion wurde anschließend durch zweimalige Ultrazentrifugation (30 min bei 66000 g) und Redispersion in Reinstwasser aufgereinigt. Die Partikeldispersionen und auch die Zentrifugationspellets zeigten eine homogene tiefrote Färbung. Die Ausbeute an CaP/CMC/*m*THPP-Partikeln betrug ca. $265 \pm 10 \text{ mg / L}$. Nach der Aufreinigung wurde die Dispersion zum Erhalt der kolloidalen Stabilität 1:5 verdünnt. Ohne die Verdünnung kam es zur Agglomeration der Partikel. Die Konzentration an Calciumphosphat-Nanopartikeln in der aufgereinigten Dispersion betrug $34 \pm 1.7 \text{ mg L}^{-1}$ und wurde berechnet über:

$$m(\text{Ausbeute}_{\text{CaP/CMC/mTHPP}}) \cdot w(\text{mineralischer Anteil}) = m(\text{Ausbeute}_{\text{CaP}})$$

Gleichung 26

Nach der Aufreinigung wurde die Dispersion zum Erhalt der kolloidalen Stabilität 1:5 verdünnt. Ohne die Verdünnung kam es zur Agglomeration der Partikel. Die Konzentration an Calciumphosphat-Nanopartikeln in der aufgereinigten Dispersion betrug $34 \pm 1.7 \text{ mg L}^{-1}$. Der Farbstoffgehalt an den Partikeln wurde mit Hilfe der UV-

3. Ergebnisse und Diskussion

Spektroskopie bestimmt. Hierzu wurden wässrige CMC-Lösungen (0.4 mg L^{-1}) mit definierten Konzentrationen an *m*THPP vermessen und eine Kalibrationsgerade für die maximale Absorption bei 422 nm aufgenommen (Abbildung 54). Über die ermittelte Geradengleichung konnte anschließend die Farbstoffmenge an den Partikeln bestimmt werden.

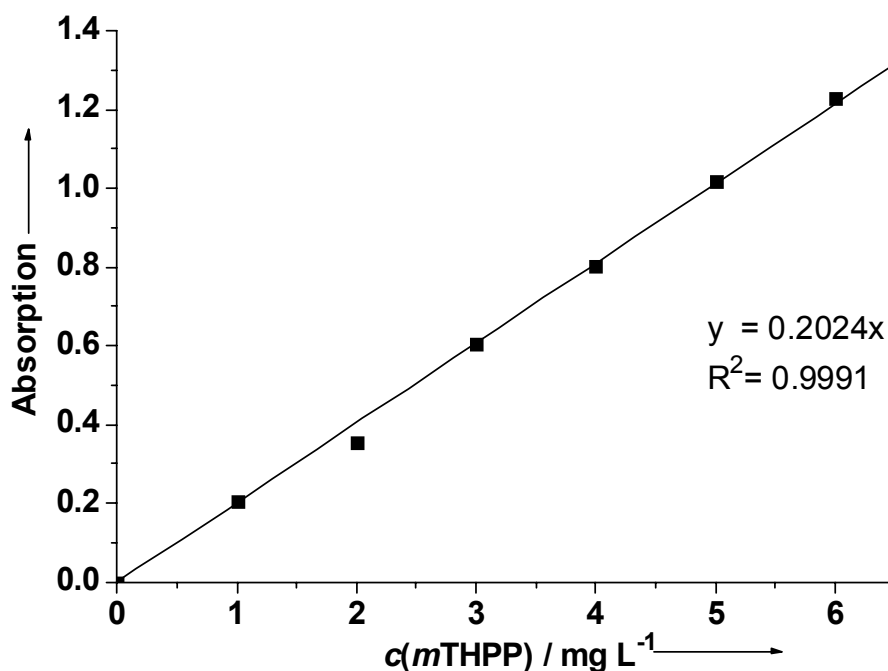


Abbildung 54: UV-Messungen definierter *m*THPP-Konzentrationen in CMC-Lösung zur Ermittlung einer Kalibrationsgeraden für die Bestimmung der *m*THPP-Konzentration an den CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln.

Die Wirksamkeit der Partikel wurde in Kooperation mit der Firma *biolitec AG* an den Bakterienkulturen *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativ) und *Staphylococcus aureus* (Gram-positiv) und drei verschiedene Zellkulturen (Krebszellen, Synoviozyten, Makrophagen) getestet.

3.4.2.5 Umladung der Partikeloberfläche von mit CMC-funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln

Die Partikeloberfläche konnte durch Zugabe eines positiven Polyelektrolyten umgeladen werden. Die nach der Aufreinigung erhaltene Photosensibilisator-Partikeldispersion wurde im Verhältnis 8:1 mit einer Polyethylenimin (PEI)-Lösung (2 g L^{-1} , pH 10.4) versetzt. Die Partikel wurden durch Ultrazentrifugation (30 min bei 66000 g) und Redispersion in Reinstwasser aufgereinigt. Die Konzentration an

3. Ergebnisse und Diskussion

Calciumphosphat-Nanopartikeln in der aufgereinigten Dispersion betrug $30 \pm 1.5 \text{ mg L}^{-1}$. Der Farbstoffgehalt wurde ebenfalls über UV-Spektroskopie bestimmt.

3.4.2.6 Durchführung der Zelltests

Für die Zelltests wurden folgende Zelllinien verwendet:

- HT29: Epithelzellen eines humanen Kolonkarzinoms (Darmkrebs)
- HIG-82: Synoviozytenzellen vom Kaninchen
- J-774A.1: Makrophagen von der Maus

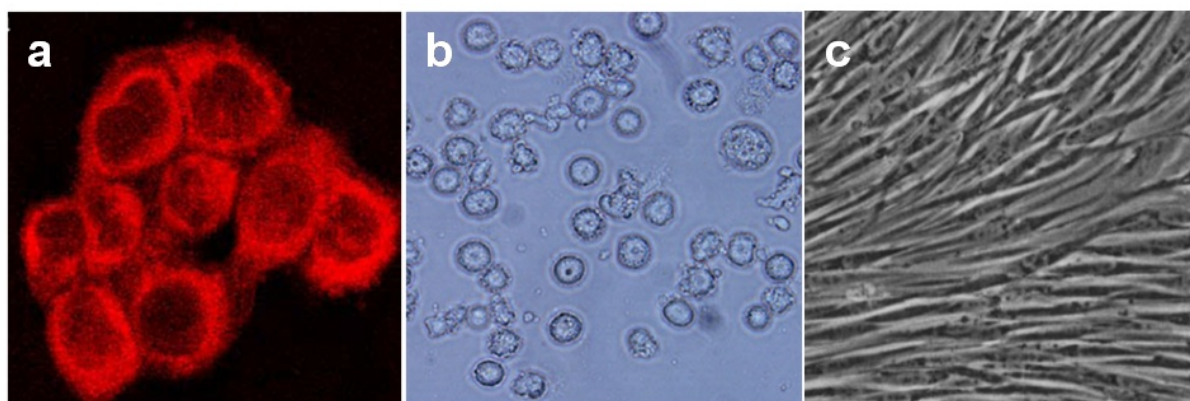


Abbildung 55: Lichtmikroskopische Aufnahmen der getesteten Zelllinien; a HT29 (entnommen aus Referenz ^[187]), b J-774A.1 (entnommen aus Referenz ^[188]), c HIG-82 (entnommen aus Referenz ^[189])

Die Zelllinien wurden in *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) unter Zusatz von 10 % Kälberserum, 1 % Penicillin (10000 I. U.) und Streptomycin ($10000 \mu\text{g mL}^{-1}$) kultiviert und in Zellkulturflaschen im Inkubator (5 % CO_2 , 37°C , 95 % Luftfeuchtigkeit) aufgezogen. Die Zellen wurden in eine 96-well Multititerplatte mit einer Zelldichte von $2 \cdot 10^5$ Zellen pro Well ausgesät und in 50 μL RPMI-1640 ohne Phenolrot, 10 % Kälberserum und 50 μL der *m*THPP-beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel für 24 h inkubiert. Pro eingesetzter *m*THPP-Konzentration eines jeden Partikelsystems wurden acht Parallelexperimente durchgeführt, d. h. es wurden jeweils vier Wells in zwei Multititerplatten befüllt. Nach der Inkubation wurden die Wells geleert und mit 100 μL DMEM aufgefüllt. Die Wells der ersten Multititerplatte wurden mit einem Dioden-Laser der Firma *biolitec AG* für

3. Ergebnisse und Diskussion

50 s bestrahlt (652 nm, 0.5 W). Zur Bestimmung der Dunkeltoxizität wurden die Wells der zweiten Multititerplatte nicht bestrahlt. Nach der Bestrahlung wurden die Zellen erneut für 24 h im Brutschrank bei oben genannten Bedingungen inkubiert. Zur Bestimmung der Zellvitalität wurde ein XTT-Test durchgeführt. Hierbei wurden 500 mg XTT (Natrium 3-[(phenylaminocarbonyl)-3,4-tetrazolium]-bis(4-methoxy-6-nitro)benzolsulfonsäure) zu 500 mL PBS (ohne Ca^{2+} und Mg^{2+}) gegeben. Zur Aktivierung wurde anschließend PMS (N-methyldibenzopyrazinmethylsulfat) in PBS hinzugefügt. Das alte Zellmedium wurde gegen 100 μL frisches Medium mit 50 μL XTT-Reaktionslösung ausgetauscht. Die Zellen wurden für weitere 2-3 Stunden im Brutschrank inkubiert, bis sich ein oranger Farbstoff bildet. Die Bildung des Farbstoffs zeigte, dass ein Komplex mit Stoffwechselprodukten der Zellen entstanden war. Die Tiefe der Färbung ließ sich auf noch lebende Zellen beziehen. Die Absorption der Zellproben wurde mit einem Spektrometer (Tecan Infinite 200) bei einer Wellenlänge von 490 nm gemessen. Die Zellvitalität konnte bei dem Vergleich der Absorption der bestrahlten Proben mit den unbestrahlten Kontrollen (ohne applizierte *m*THPP-beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel) bestimmt werden.

3.4.2.7 Durchführung der Bakterientests

Die für die Tests verwendeten Bakterienstämme waren ein Gram-positiver Stamm: *Staphylococcus aureus*, und ein Gram-negativer Stamm: *Pseudomonas aeruginosa*. Die Bakterien wurden aerob über Nacht bei einer Temperatur von 37 °C in einer Caso-Bouillon kultiviert, durch anschließende Zentrifugation gesammelt und in sterilem Phosphatpuffer (PBS) redispergiert. Die optische Dichte der Suspension wurde bei 600 nm und einer Schichtdicke von 1 cm durch Verdünnung mit PBS auf 0.015 eingestellt. Es wurden jeweils 190 μL der Bakteriensuspension in eine 96-well Multititerplatte mit durchsichtigem Boden gegeben und mit jeweils 10 μL der mit MB- oder *m*THPP-beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel versetzt. Der Kontrolle für das Bakterienwachstum wurde keine Partikeldispersion, sondern 10 μL PBS zugesetzt. Die Proben wurden für 30 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert und anschließend mit einem Dioden-Laser der Firma *biolitec AG* für 100 Sekunden über einen Lichtleiter bestrahlt (665 nm, 1 W cm^{-2}). Die Kontrolle für das Bakterienwachstum (ohne Partikeldispersion) und die Kontrolle für die

Dunkeltoxizität (mit Partikeldispersion) wurden nicht bestrahlt. Nach der Bestrahlung wurden die Proben aus den Wells pipettiert, mit Caso-Boullion 1:10 verdünnt und auf einen Agar-Nährboden ausplattiert. Pro Partikelart wurden drei Platten der bestrahlten Proben und die beiden unbestrahlten Kontrollen angefertigt. Die ausplattierten Bakterien wurden für 24 h im Brutschrank bei 37 °C inkubiert und anschließend mit den Counter Countermat Flash von „iul Instruments“ ausgezählt.

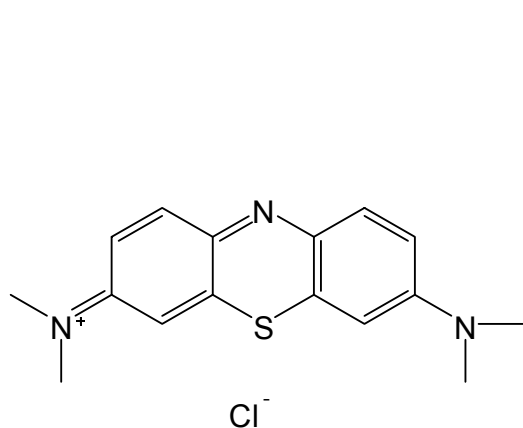
3.4.3 Ergebnisse und Diskussion

Die Anbringung von *m*THPP an die in Kapitel 2 vorgestellten und charakterisierten PSS- bzw. CMC-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel erfolgte nach dem Prinzip von Dai et al.^[190] In diesem Artikel wird beschrieben, dass es möglich ist, lipophile, ungeladene Moleküle mit niedrigem Molekulargewicht wie z.B. Porphyrin-Farbstoffe wie *m*THPP in wässrigen Lösungen an bzw. in Polymerschichten einzulagern und auch weitere Schichten nach der *LbL*-Technik aufzutragen. Bei der Durchmischung von z.B. alkoholischer Porphyrin-Lösung mit der wässrigen Dispersion bestehend aus Polymer beschichteten Partikeln setzt sich ein Anteil des eingesetzten Porphyrins an bzw. in die Polymerschleifen auf der Partikeloberfläche. Grund hierfür ist die ungünstige Situation des Porphyrins in der polaren wässrigen Umgebung. Die am wenigsten polare Stelle der Dispersion ist die Polymerbeschichtung des Partikels, in die sich das Porphyrin dann einlagert. Ein anderer Ansatz ist die Anbindung von geladenen Molekülen an Polymer-funktionalisierte Partikel über elektrostatische Wechselwirkung. Dieses Prinzip ist auch auf mehrfach geladene Ionen wie Tb^{3+} anwendbar und wurde von Radtschenko et al. publiziert.^[103] Das Prinzip ähnelt der *LbL*-Technik. Hier wurde nach der Auftragung einer ersten Polymerschicht keine weitere entgegengesetzte Polymerschicht, sondern eine entgegengesetzt geladene niedermolekulare Spezies, oder auch entgegengesetzte hochgeladene Ionen wie Tb^{3+} aufgebracht.

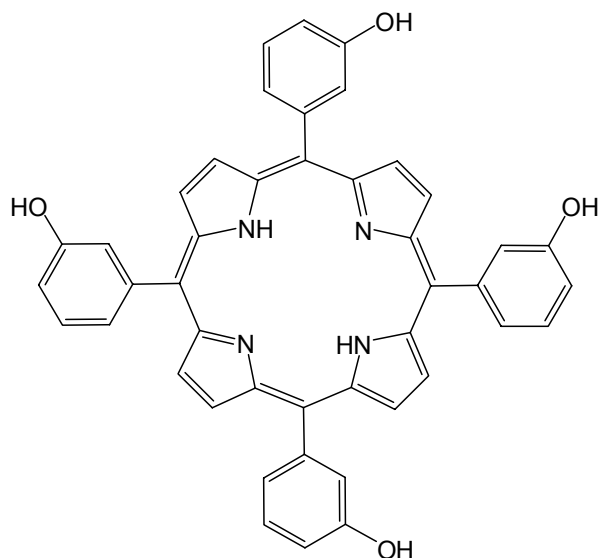
In diesem Kapitel wird die Auftragung von *m*THPP auf PSS- und CMC-beschichtete Calciumphosphat-Nanopartikel nach der Methode von Dai et al. und die Auftragung von Methylenblau auf PSS-beladene Calciumphosphat-Nanopartikel nach dem Prinzip der elektrostatischen Wechselwirkung behandelt. Die verwendeten Farbstoffe sind in Abbildung 56 dargestellt. Methylenblau ist als effektiver Wirkstoff in der PDT bekannt. Dabei wird er sowohl in der Tumorthherapie als auch zur antibakteriellen

3. Ergebnisse und Diskussion

Behandlung eingesetzt.^[191,192] *m*THPP findet ebenfalls Anwendung in der Tumorthherapie.^[193]



Methylenblau (MB)



**5,10,15,20-Tetrakis
(hydroxyphenyl)-porphyrin
(*m*THPP)**

Abbildung 56: Strukturformeln der in dieser Arbeit verwendeten Photosensibilisatoren.

Abbildung 57 zeigt die schematische Darstellung der Bildung der PSS-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel und die Einlagerung des Farbstoffes *m*THPP in das Polymer (CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel).

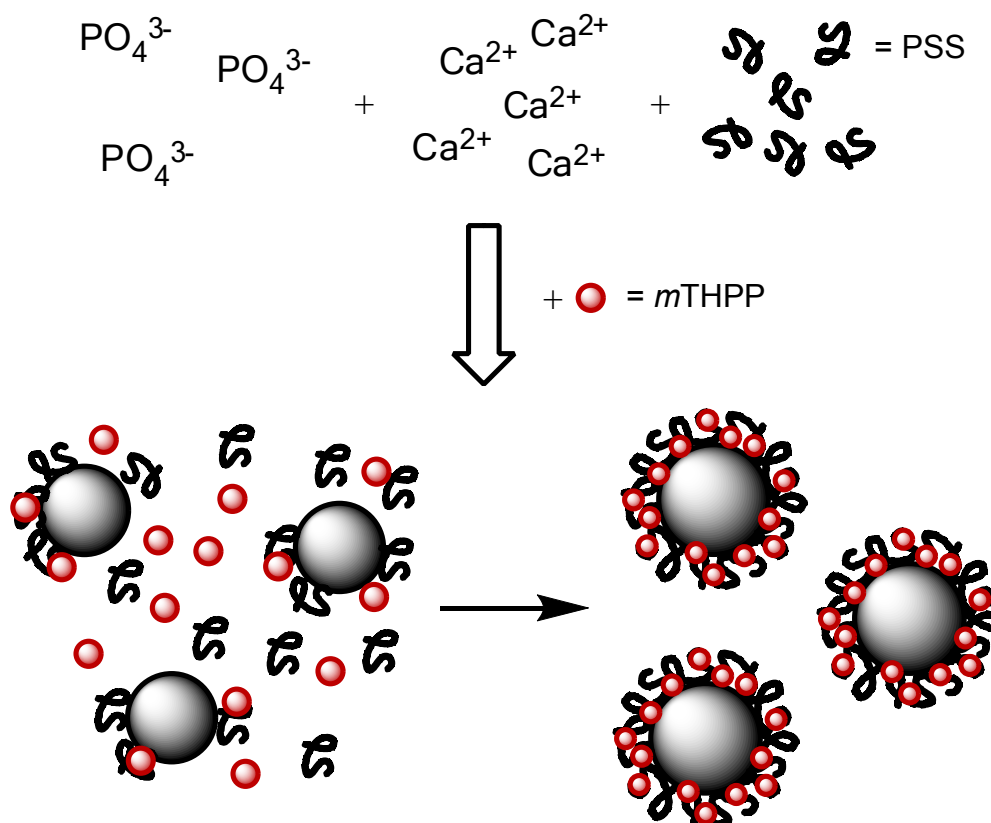


Abbildung 57: Schematische Darstellung der Bildung der CaP/PSS/mTHPP-Nanopartikel.

Zum Zeitpunkt der mTHPP-Zugabe war die Adsorption des PSS an die Partikel noch nicht abgeschlossen, da zur vollständigen Adsorption einer Polymerschicht ca. 20 min notwendig sind.^[87] Deshalb war davon auszugehen, dass sich das mTHPP nicht nur auf der Polymeroberfläche, sondern auch in der Polymerschicht befand.

Abbildung 58 zeigt die schematische Darstellung der Aufbringung einer PAH-Schicht auf die CaP/PSS/mTHPP-Nanopartikel (CaP/PSS/mTHPP/PAH-Nanopartikel). Dabei wurde nach der LbL-Technik vorgegangen.

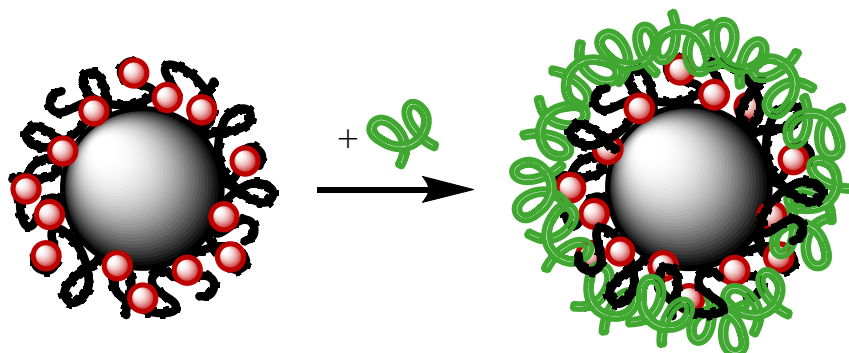


Abbildung 58: Schematische Darstellung der CaP/PSS/mTHPP/PAH-Nanopartikel.

3.4.3.1 Charakterisierung der mit PSS funktionalisierten und mit Methylenblau-beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel

Die Größenverteilung der wie in Kapitel 3.2.3.2 beschrieben dargestellten PSS-funktionalisierten und mit MB-beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel (CaP/PSS/MB-Nanopartikel) wurde mit Hilfe der DLS bestimmt. Abbildung 59 zeigt die Größenverteilung von zwei Ansätzen mit unterschiedlichen MB-Beladungen. Zusätzlich ist die Größenverteilung von CaP/PSS-Nanopartikeln ohne MB-Beladung zum Vergleich dargestellt.

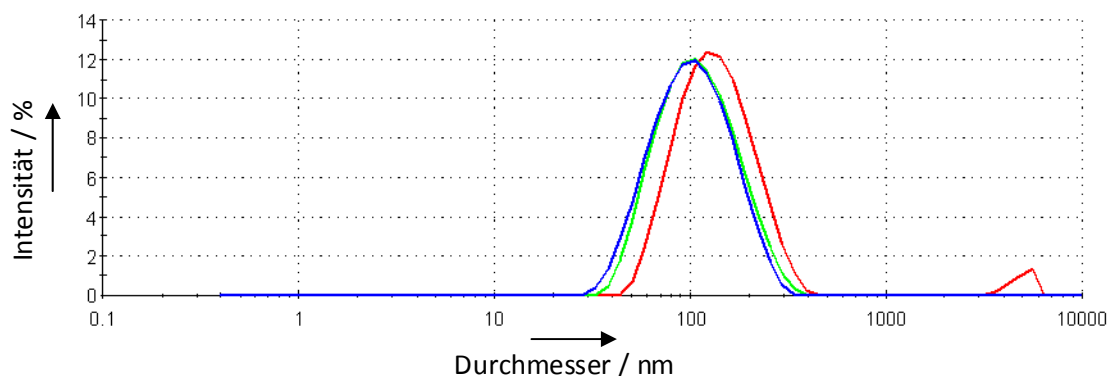


Abbildung 59: Größenverteilung der CaP/PSS/MB-Nanopartikel; rot: ohne MB, grün: 2 mL MB, blau: 5 mL MB.

Deutlich zu erkennen ist, dass das MB die Größe der Partikel im Vergleich zu Partikeln ohne MB kaum beeinflusste. So zeigten die unbeladenen Partikel 130 nm im Durchmesser. Die MB-beladenen Partikel zeigten einen Durchmesser von Ø 95 nm (PDI Ø 0.153), wobei die Partikel mit steigender MB-Beladung keine Größenunterschiede aufwiesen. Aus der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen PSS und MB könnte eine kompaktere Polymerhülle resultieren, welche wiederum

3. Ergebnisse und Diskussion

den Partikeldurchmesser im Vergleich zu unbeladenen Partikeln verkleinerte. Das Zetapotential ist unabhängig von der Farbstoffmenge und betrug für alle Partikel mit und ohne MB-Beladung nach der Aufreinigung -20 ± 10 mV. Obwohl die Zetapotentiale unter -30 mV lagen, waren alle Partikeldispersionen einige Wochen lang stabil. Abbildung 60 zeigt eine REM-Aufnahme der CaP/PSS/MB-Nanopartikel. Die REM-Aufnahme zeigt deutlich kleinere Partikel (um ca. 60-80 nm) als mit der DLS bestimmt wurde.

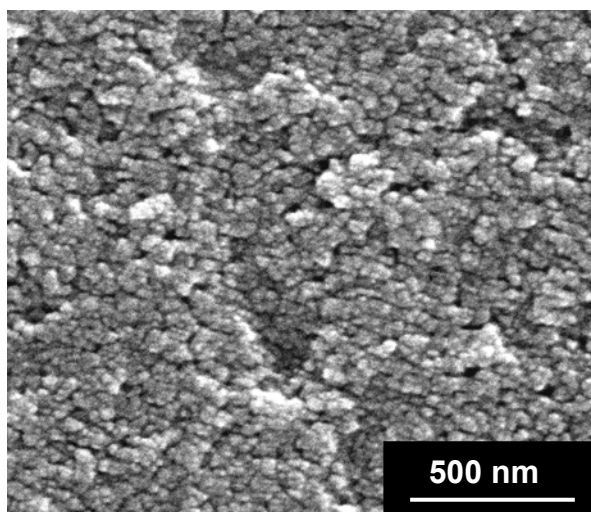


Abbildung 60: REM-Aufnahme der CaP/PSS/MB-Nanopartikel.

Die quantitative Bestimmung des MB-Gehalts an den Partikeln wurde mit Hilfe der UV-Spektroskopie realisiert. Hierzu wurden MB-Lösungen bekannter Konzentration vermessen, um so eine Kalibrationsreihe (Abbildung 52) anfertigen zu können. Abbildung 61 zeigt zwei Absorptionsspektren von CaP/PSS/MB-Nanopartikel mit zwei verschiedenen *m*THPP-Konzentrationen. Zu sehen sind die für MB typischen Banden bei 606 und 664 nm^[191]; die Bande bei 664 nm wurde für die Bestimmung der Kalibrationsgeraden verwendet.

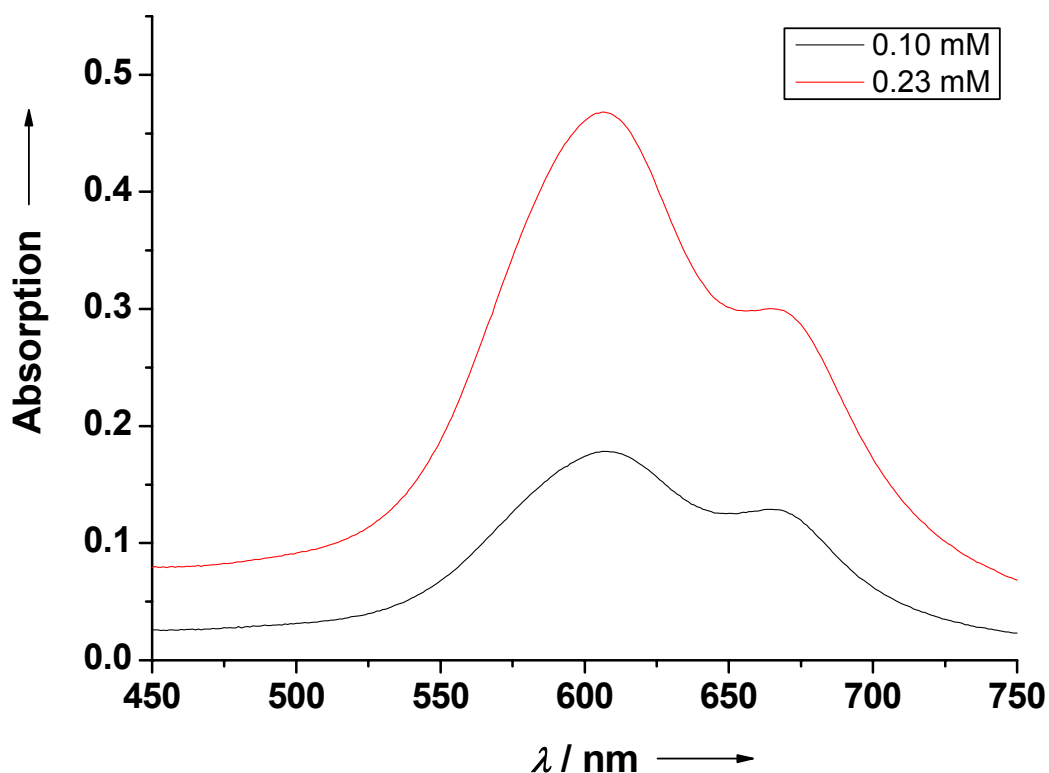


Abbildung 61: UV-Spektren von mit MB-beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln; zwei verschiedene Beladungskonzentrationen.

Die Zusammensetzung der Probe wurde mit Hilfe der Elementaranalyse (Atomabsorptionsspektroskopie, CHN-Analyse) bestimmt. Demnach bestehen die Partikel zu ca. 70 % aus einer mineralischen Phase mit einem Ca/P-Verhältnis von ca. 2. Abbildung 62 zeigt ein Röntgenpulverdiffraktogramm der CaP/PSS/MB-Nanopartikel. Das Diffraktogramm zeigt, dass die Partikel röntgenamorph sind.

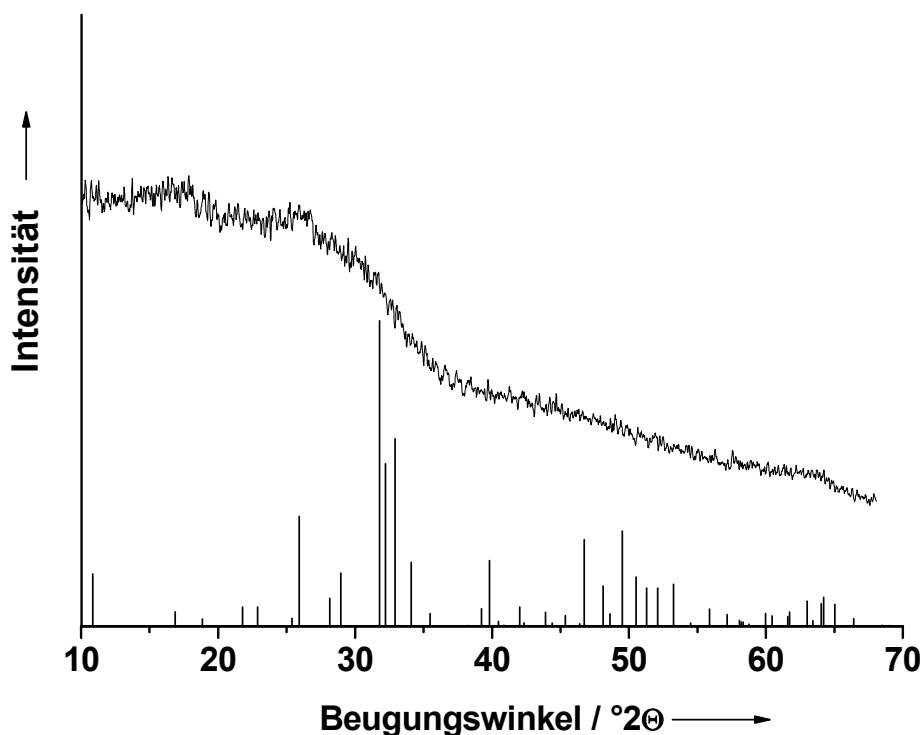


Abbildung 62: XRD der CaP/PSS/MB-Nanopartikel; zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt.

3.4.3.2 Charakterisierung der mit PSS funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel

Die Größenverteilung der wie in Kapitel 3.4.2.2 beschrieben dargestellten, PSS-funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel (CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel) wurde mit Hilfe der DLS bestimmt. Abbildung 63 zeigt die Größenverteilung von drei Partikeldispersionen. Der Unterschied zwischen den Dispersionen ist die *m*THPP-Beladung der Calciumphosphat-Nanopartikel. Zusätzlich ist die Größenverteilung von CaP/PSS-Nanopartikeln ohne *m*THPP-Beladung zum Vergleich dargestellt.

3. Ergebnisse und Diskussion

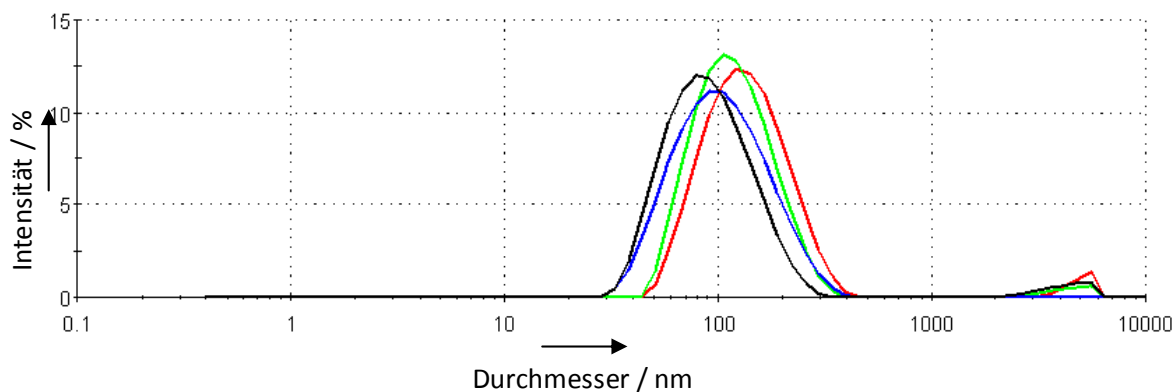


Abbildung 63: Größenverteilung der CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel nach der Aufreinigung; rot: ohne *m*THPP, grün: 1 mL *m*THPP, blau: 3 mL *m*THPP, schwarz: 5 mL *m*THPP.

Deutlich zu erkennen ist, dass das *m*THPP die Größe der Partikel im Vergleich zu Partikeln ohne *m*THPP kaum beeinflusste. So waren die unbeladenen Partikel 130 nm groß. Die *m*THPP-beladenen Partikel zeigten einen Durchmesser von Ø 100 nm (PDI Ø 0,196), wobei sich die Partikel mit steigender *m*THPP-Beladung geringfügig verkleinerten. Aufgrund des vorliegenden pH-Wertes von ca. 9.4 (Tabelle 12) ist davon auszugehen, dass die Phenolgruppen am *m*THPP deprotoniert vorlagen. Somit kommt es in gewissem Maße zu Abstoßungen zwischen dem *m*THPP und dem PSS. Durch diese Abstoßung ist die Polymeradsorption geringer und die Größe der Partikel kleiner. Das Zetapotential ist unabhängig von der Farbstoffmenge und betrug für alle Partikeldispersionen mit und ohne *m*THPP-Beladung nach der Aufreinigung -23 ± 8 mV. Obwohl die Zetapotentiale unter -30 mV lagen, sind alle Dispersionen für mehrere Wochen stabil. Abbildung 64 zeigt eine REM-Aufnahme der CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel. Die REM-Aufnahme zeigt wiederum deutlich kleinere Partikel (um ca. 80 nm) als mit der DLS bestimmt wurde.

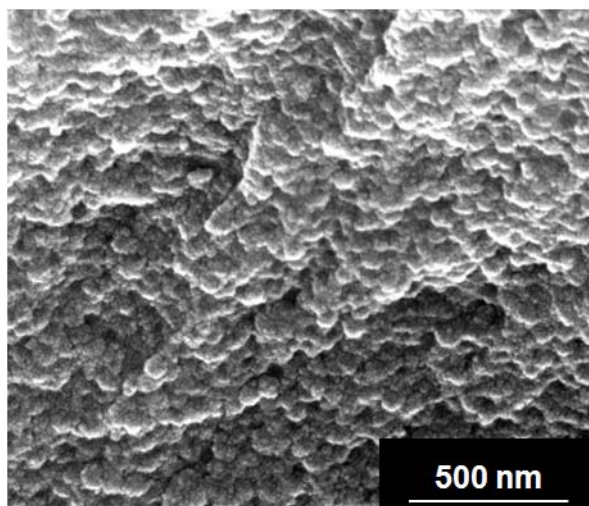


Abbildung 64: REM-Aufnahme CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel.

Die quantitative Bestimmung des *m*THPP-Gehalts an den Partikeln wurde mit Hilfe der UV-Spektroskopie realisiert. Hierzu wurden *m*THPP-Lösungen bekannter Konzentration vermessen, um so eine Kalibrationsreihe (Abbildung 53) anfertigen zu können. Die *m*THPP-Lösungen wurden in PSS-Lösung angesetzt, um für die Aufnahme der Kalibrationsgeraden eine möglichst gleichwertige chemische Umgebung wie an den Partikeln gewährleisten zu können. Abbildung 65 zeigt fünf Absorptionsspektren von CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel mit fünf verschiedenen *m*THPP-Konzentrationen. Zu sehen sind die für *m*THPP typischen Q-Banden im Bereich von 520-650 nm und die intensive Soretbande bei 422 nm^[194], die auch für die Bestimmung der Kalibrationsgeraden verwendet wurde. Außerdem zeigte sich eine Peakverbreiterung mit steigendem *m*THPP-Gehalt. Ein UV-Spektrum von reinem *m*THPP in 2-Propanol zeigt schärfere Peaks. Demnach ist die Peakverbreiterung auf eine Aggregation der Farbstoffmoleküle an den Partikeln zurückzuführen.^[134] Auch die Fluoreszenzspektren (Abbildung 66) der entsprechenden Ansätze bestätigen die Aggregation.

3. Ergebnisse und Diskussion

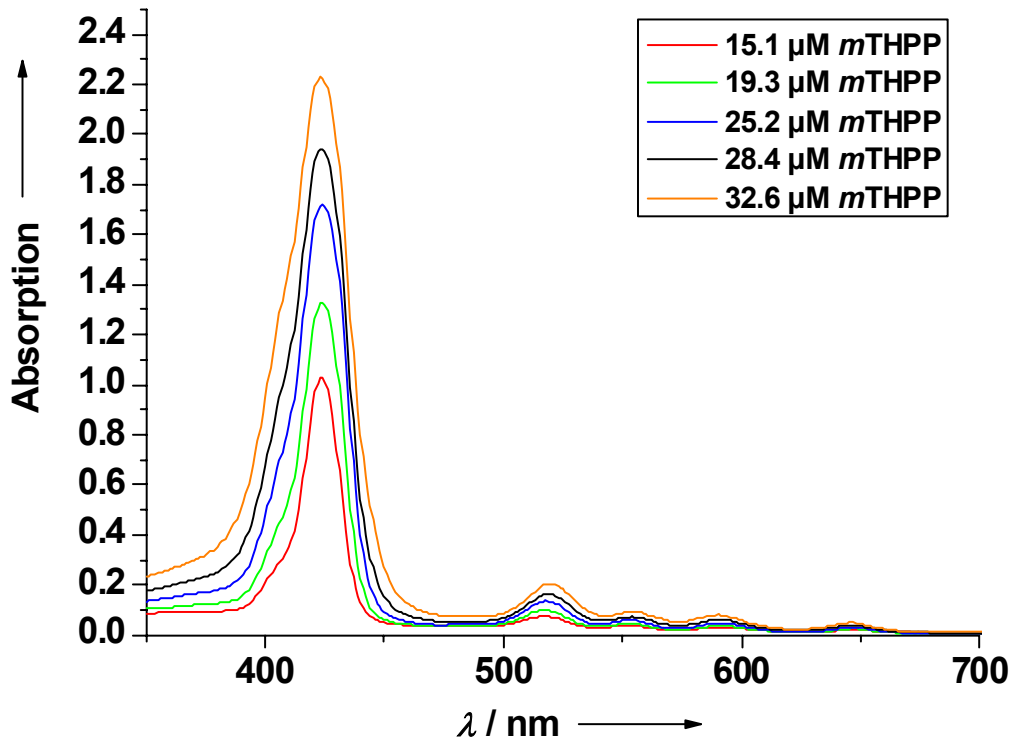


Abbildung 65: UV-Spektren von CaP/PSS/mTHPP-Nanopartikeln; fünf verschiedene Beladungskonzentrationen.

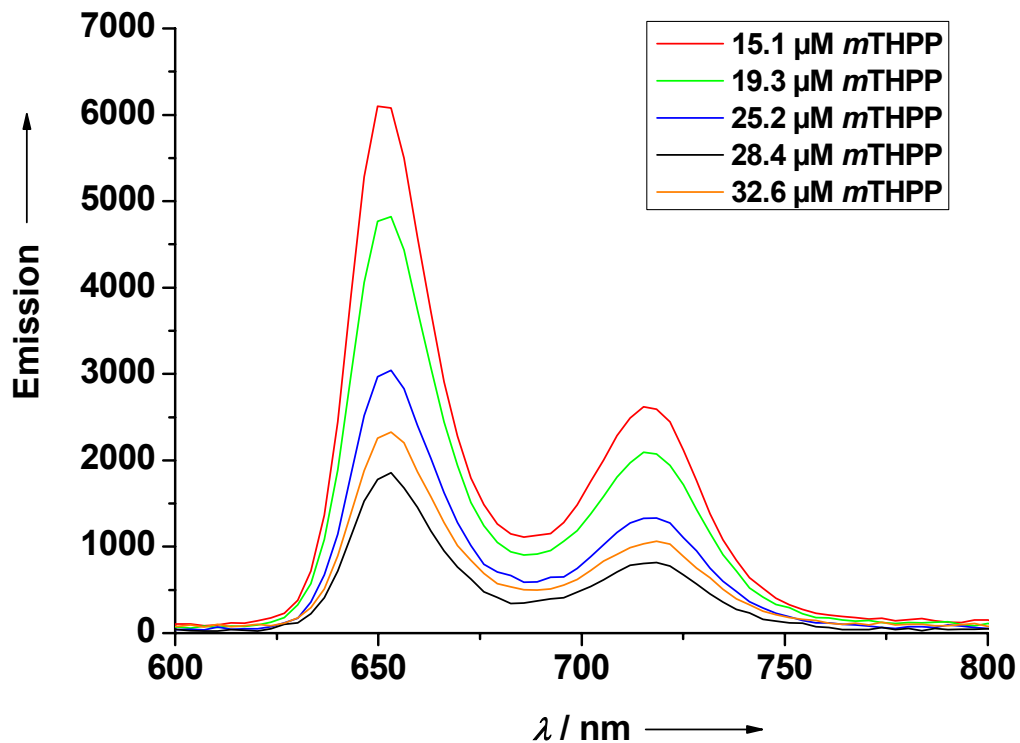


Abbildung 66: Fluoreszenzspektren von CaP/PSS/mTHPP-Nanopartikeln; fünf verschiedene Beladungskonzentrationen.

3. Ergebnisse und Diskussion

Es fällt auf, dass mit steigender *m*THPP-Konzentration die Fluoreszenz der Proben sinkt. Dies ist auf die in Abbildung 67 dargestellte π - σ -Wechselwirkungen zwischen den auf den Calciumphosphat-Partikeln nah beieinander liegenden *m*THPP-Molekülen zurückzuführen. Durch diese Wechselwirkung kommt es zu Energieübertragungen zwischen den Farbstoffmolekülen, wodurch die Fluoreszenz abgeschwächt wird.^[134]

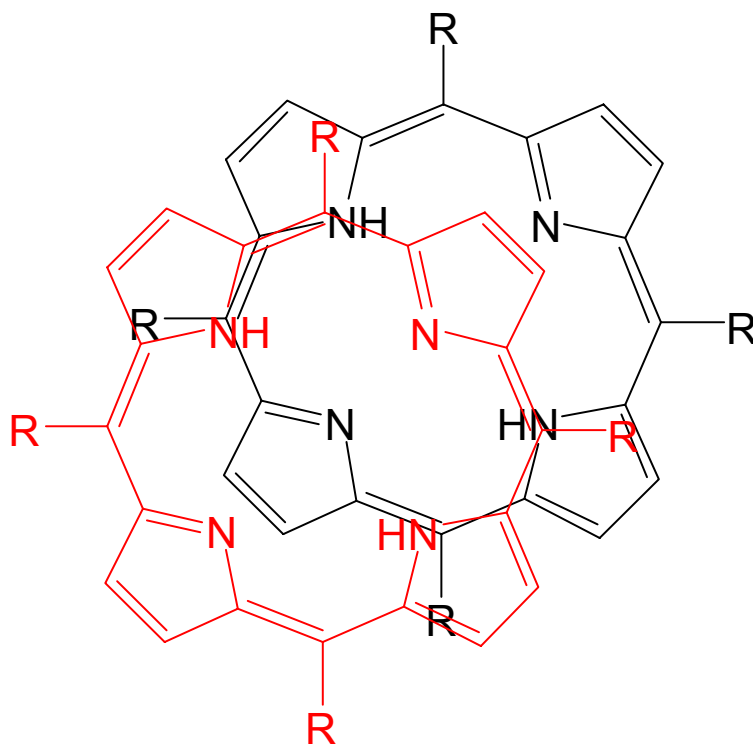


Abbildung 67: Schematische Darstellung der π - σ -Wechselwirkung zwischen *m*THPP-Molekülen.

Die Zusammensetzung der Partikel wurde über thermogravimetrische Analyse und Elementaranalyse (Atomabsorptionsspektroskopie, CHN-Analyse) bestimmt. Abbildung 68 zeigt die Thermogramme von CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikeln und unbeladenen CaP/PSS-Nanopartikeln im Vergleich. Die thermogravimetrische Analyse wurde unter Sauerstoffatmosphäre bei einer Flussrate von 50 mL min⁻¹ in einem offenen Al₂O₃-Tiegel durchgeführt. Die Einwaagen betrugen 16.9 mg für die Partikel ohne *m*THPP und 12.6 mg für die Partikel mit *m*THPP Beladung.

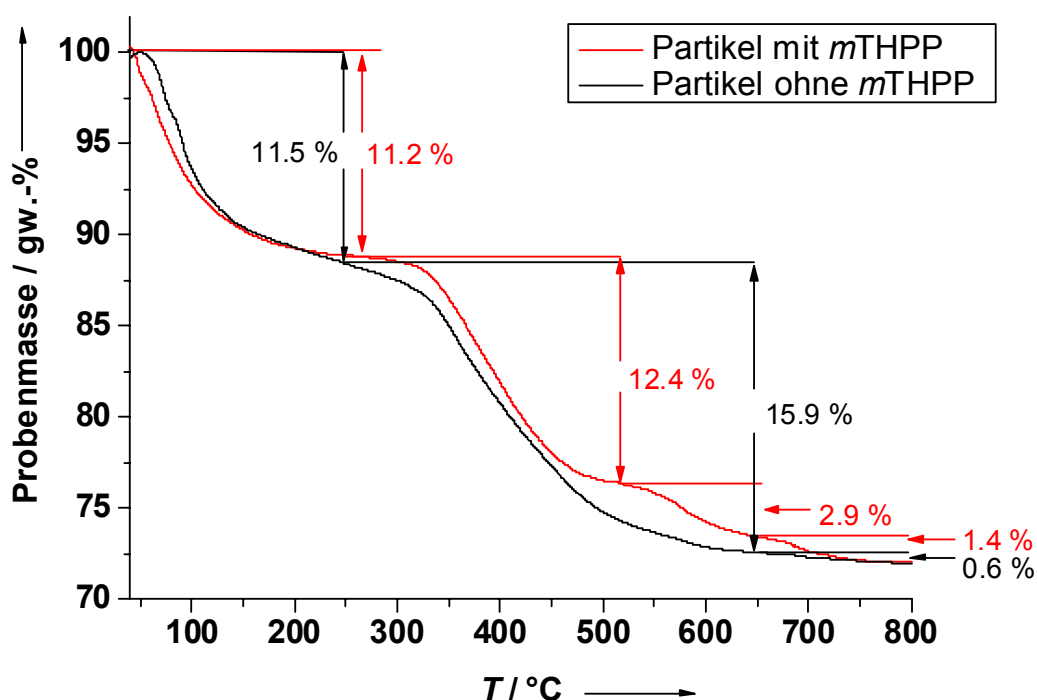


Abbildung 68: TGA der CaP/PSS-Nanopartikel mit und ohne *m*THPP-Beladung in einer Sauerstoffatmosphäre (50 mL min^{-1}) und mit einer Heizrate von 1 K min^{-1} .

Die erste Zersetzungsstufe für die Partikel mit *m*THPP-Beladung betrug 11.2 % und beschreibt den Wasserverlust der Probe. Dieser entspricht dem Wasserverlust der unbeladenen Probe. Der zweite Zersetzungsschritt von 12.4 % umfasst den Polymergehalt der Probe, der sich von dem Massenverlust der unbeladenen Probe um 3.5 % unterscheidet. Hier bestätigt sich die bei der Partikelgrößenbestimmung aufgestellte Vermutung, dass das *m*THPP die Polymeradsorption aufgrund von elektrostatischer Abstoßung hemmt. Die dritte Zersetzungsstufe von 2.9 % könnte den Abbrand des *m*THPP der *m*THPP-beladenen Probe beschreiben. Die *m*THPP-Beladung wurde im Vorfeld mit Hilfe der UV-Spektroskopie quantifiziert und ergab 2.8 %. Das Ergebnis der UV-Messung stimmt somit mit dem Ergebnis der TGA überein. Der letzte Massenverlust von 1.4 % beschreibt den CO_2 -Verlust aus dem CO_3^{2-} -Anteil der Calciumphosphat-Partikel. Demnach muss die mineralische Phase der Probe nach Gleichung 9 1.9 % CO_3^{2-} enthalten. Der Anteil ist im Vergleich mit den unbeladenen Partikeln doppelt so groß. Der Anteil an Calciumphosphat betrug laut TG 72.1 %. Das Ca/P-Verhältnis betrug 1.67, was exakt der Stöchiometrie von Hydroxylapatit entspricht. Die mineralische Phase der unbeladenen Partikel betrug 72.6 % mit einem Ca/P-Verhältnis von 1.69, was nahe der Stöchiometrie von

Hydroxylapatit liegt. Es ist also davon auszugehen, dass der Zusatz von *m*THPP die Bildung der Calciumphosphat-Partikel nicht wesentlich beeinflusst. Auch ein Vergleich der Röntgenpulverdiffraktogramme belegt diese Annahme (Abbildung 69).

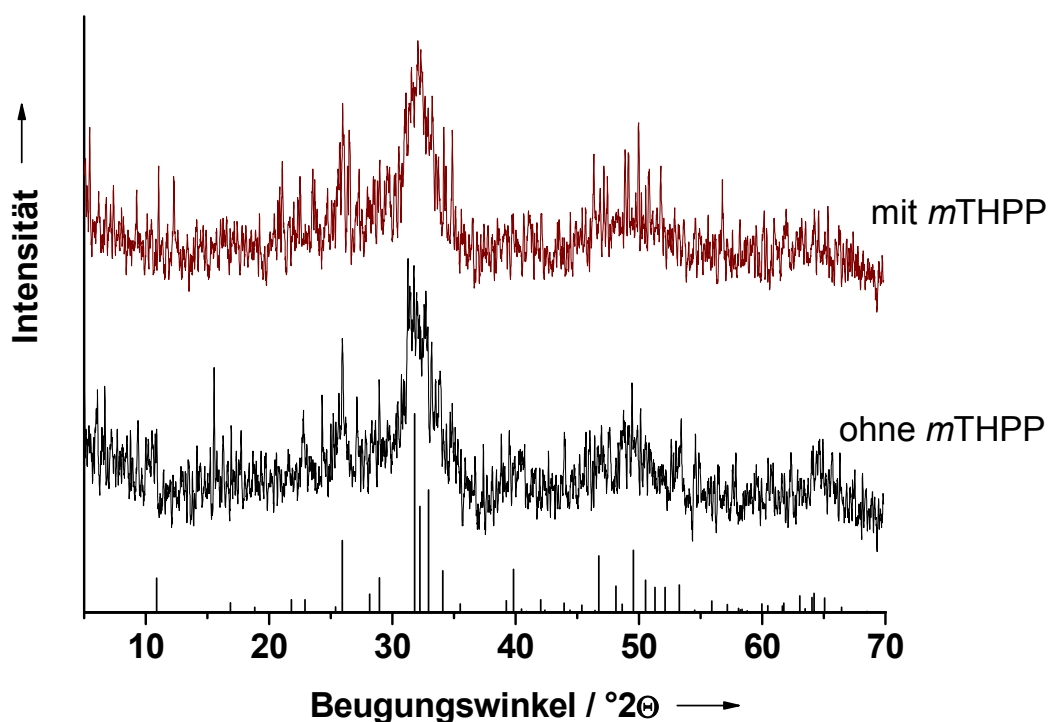


Abbildung 69: Vergleich der Röntgenpulverdiffraktogramme von beladenen (violett) und unbeladenen (schwarz) CaP/PSS-Nanopartikeln; zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt.

Die abgebildeten Diffraktogramme unterscheiden sich nicht wesentlich voneinander. Es zeigt sich, dass beide Partikelarten nicht vollständig amorph, sondern nanokristallin sind. Ein Vergleich mit den zusätzlich dargestellten, berechneten Hydroxylapatit-Reflexlagen zeigt, dass es sich in beiden Fällen bei der mineralischen Phase der Partikel um nanokristallinen Hydroxylapatit handelt.

3.4.3.3 Charakterisierung der mit PSS/PAH funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel

Die CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel konnten durch die Auftragung einer weiteren entgegengesetzt geladenen Polymerschicht nach der *LbL*-Methode (siehe Kap. 3.3) umgeladen werden. Es wurde PAH zur Umladung benutzt (CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel). Die Darstellung der Partikel erfolgte wie in Kap. 3.4.2.3 beschrieben.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Größenverteilung wurde mit Hilfe der DLS bestimmt. Abbildung 70 zeigt die Größenverteilung von drei Ansätzen mit unterschiedlicher *m*THPP-Beladung.

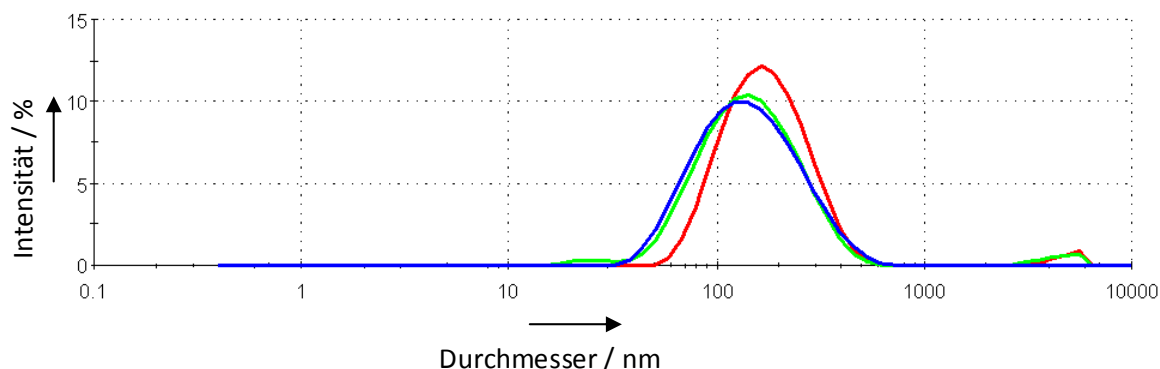


Abbildung 70: Größenverteilung der CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel nach der Aufreinigung; rot: 1 mL *m*THPP, grün: 3 mL *m*THPP, blau: 5 mL *m*THPP.

Die mit einer weiteren PAH-Hülle umgebenen Calciumphosphat-Partikel zeigten eine deutlich breitere Größenverteilung als die nur mit PSS funktionalisierten Calciumphosphat-Partikel. Die Größenverteilung zeigte ein Maximum bei 160-180 nm (PDI Ø 0.243). Demnach vergrößerten sich die Partikel erheblich durch die Auftragung der PAH-Schicht. Es ist nicht davon auszugehen, dass die Dicke der PAH-Schicht verglichen mit den einschaligen PSS-funktionalisierten Partikeln 60-80 nm betrug. Die Peakverbreiterung spricht eher für Agglomerationserscheinungen. Das Zetapotential wechselte durch die Auftragung der PAH-Schicht zu positiven Werten von 50 ± 10 mV. Die Partikel waren für einige Wochen stabil. Abbildung 71 zeigt eine REM-Aufnahme der CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel. Diese bestätigt die Vermutung der Agglomeration. Die Primärpartikel der Agglomerate sind ca. 100 nm groß.

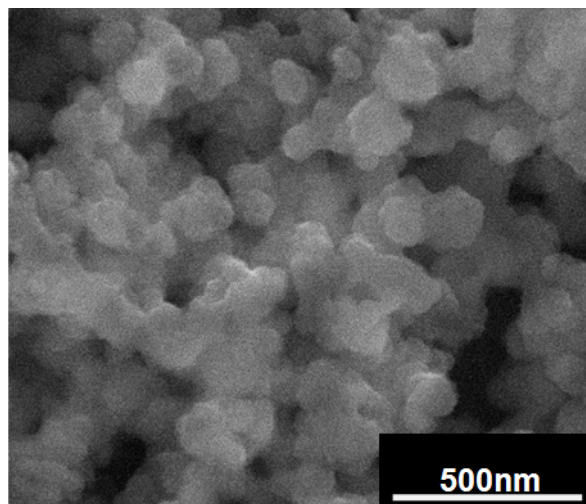


Abbildung 71: REM-Aufnahme der CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel.

3.4.3.4 Ergebnisse der Zelltests der CaP/PSS/*m*THPP- und CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel

Die CaP/PSS/*m*THPP- und CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel wurden in zwei Konzentrationsserien zu zwei verschiedenen Zeitpunkten an den Zelllinien HT29, HIG-82 und J774A.1 *in vitro* getestet. HT29 sind Epithelzellen eines humanen Kolonkarzinoms (Darmkrebs), HIG-82 sind Synoviozytenzellen vom Kaninchen und J774A.1 sind Makrophagenzellen von der Maus. Zusätzlich wurden Partikel mit entsprechender Funktionalisierung ohne *m*THPP-Beladung zum Vergleich getestet. Tabelle 13 zeigt die eingesetzten Serien.

Tabelle 13: Konzentrationsserien der durchgeführten *in vitro*-Tests

Serie	1	2
CaP/PSS/ <i>m</i> THPP-		
<i>c</i> (<i>m</i> THPP) / μM	2.7; 4.3; 5.6; 8.0; 16.7	11.1; 19.3 ;30.3
CaP/PSS/ <i>m</i> THPP/PAH		
<i>c</i> (<i>m</i> THPP) / μM	-	3.5 ;6.9 ;12.0

Die Zelltests wurden nach dem im Experimentellen Aufbau (Kap. 3.4.2.7) beschriebenen Protokoll durchgeführt. Demnach wurden die Partikeldispersionen in jedem Well 1:1 mit Medium (RPMI 1640 ohne Phenolrot, 10 % Kälberserum) verdünnt. Die effektiven *m*THPP-Konzentrationen waren somit halb so groß wie in

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 13 angegeben. Die Konzentration der CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel in jedem Well betrug ca. 95.5 mg / L. Die Konzentration der CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel in jedem Well betrug ca. 47.8 mg / L. Die Ergebnisse der Testreihe der CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel an HT29 sind in Abbildung 72 graphisch dargestellt.

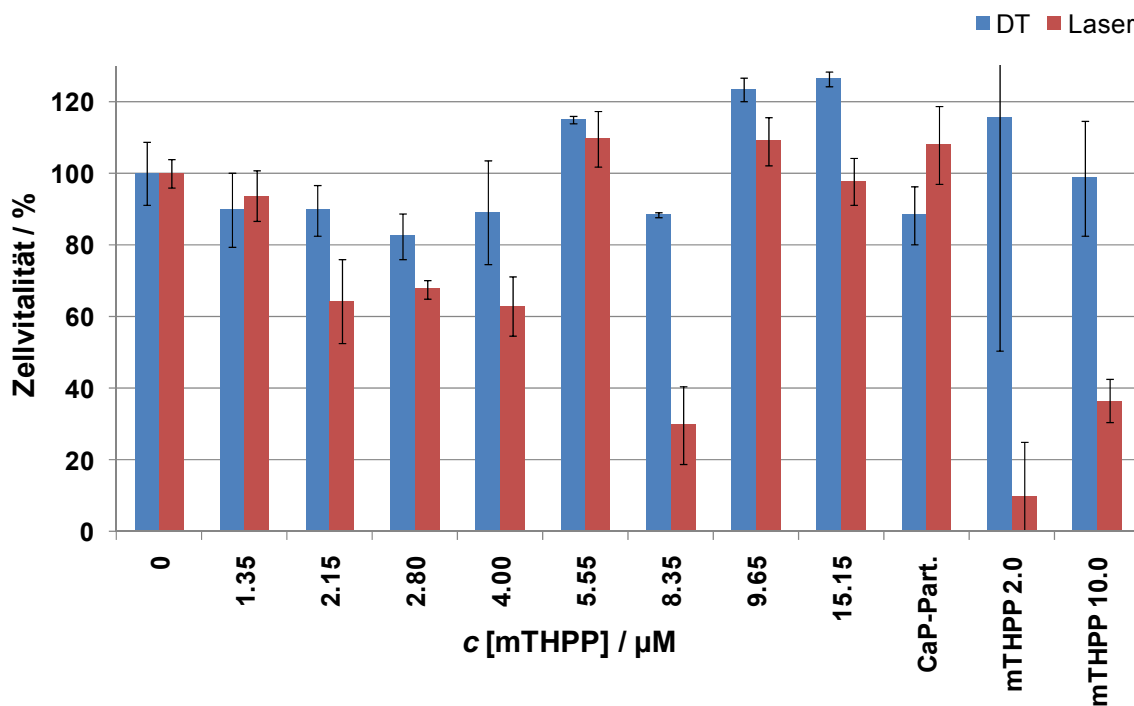


Abbildung 72: Ergebnisse der Zelltests von CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikeln an der Kolonkarzinom-Zelllinie HT29; CaP-Part. zeigt das Ergebnis von unbeladenen mit CaP/PSS-Nanopartikeln; *m*THPP 2.0 und 10.0 zeigen die Ergebnisse des freien Farbstoffes bei entsprechender Konzentration.

Aufgetragen ist die Zellvitalität auf der Ordinate gegen die *m*THPP-Konzentration an den Partikeln auf der Abszisse. Der Wert 0 auf der Abszisse zeigt die Zellvitalität der Kontrolle, d.h. der Zellprobe im Medium ohne Calciumphosphat-Dispersion. Die blauen Balken zeigen die Dunkeltoxizität (DT), d.h. die toxische Wirkung der Partikel auf die Zelllinie ohne Bestrahlung. Die roten Balken zeigen die Phototoxizität der Partikel nach der Bestrahlung (Laser) an. Die Toxizität nach der Bestrahlung wird als Phototoxizität bezeichnet. Für einen idealen Farbstoff sollte bei derartigen Zelltests keine Dunkeltoxizität (blauer Balken bei 100 %) und eine 100 %ige Phototoxizität (roter Balken bei 0 %) auftreten. Die Differenz zwischen der Dunkeltoxizität und der Phototoxizität wird als *killing* bezeichnet. Die Partikel der 1. Serie zeigten eine deutliche Phototoxizität mit steigender Beladungskonzentration gegenüber der HT29-

3. Ergebnisse und Diskussion

Zelllinie bis hin zu einem *killing* von 70 % für die *m*THPP-Konzentration 8.35 μM . Die Dunkeltoxizität lag im Rahmen der Fehlervarianzen für alle Partikel der ersten Serie bei ca. 10 %. Die Partikel der 2. Serie zeigten trotz weitestgehend höherer *m*THPP-Konzentrationen keine Toxizität nach der Bestrahlung. Die unbeladenen Calciumphosphat-Partikel zeigten im Rahmen der Fehlervarianzen keine Dunkel- und auch keine Phototoxizität nach der Bestrahlung. Ein Vergleich aller erzielten Phototoxizitäten mit den ebenfalls im Diagramm dargestellten Phototoxizitäten des freien *m*THPP (2 und 10 μM) zeigte, dass das freie *m*THPP deutlich wirksamer war als das an den Partikeln adsorbierte *m*THPP.

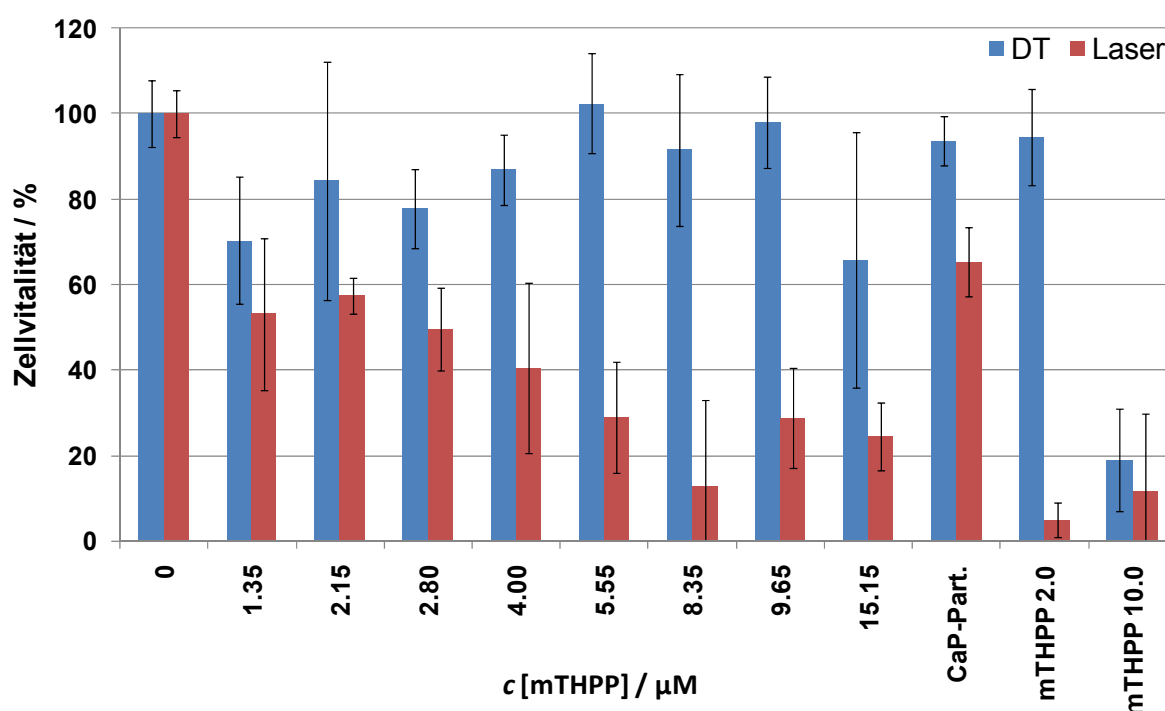


Abbildung 73: Ergebnisse der Zelltests von CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikeln an der Synoviozyten-Zelllinie HIG-82; „CaP-Part.“ zeigt das Ergebnis von unbeladenen CaP/PSS-Nanopartikeln; „*m*THPP 2.0“ und „10.0“ zeigen die Ergebnisse des freien Farbstoffes entsprechender Konzentration.

Partikel aus dem gleichen Ansatz wurden weiter an der HIG-82-Zelllinie getestet. (Abbildung 73). Im Gegensatz zu den Unterschieden der Wirksamkeit der 1. und 2. Partikelserie bei der HT29-Zelllinie fügten sich im Falle der HIG-82-Zelllinie die Ergebnisse zu einem konsistenten Gesamtbild zusammen. Mit steigender *m*THPP-Konzentration an den Partikeln stieg auch die Phototoxizität. Eine maximale Phototoxizität war im Rahmen der Fehlervarianzen ab einer *m*THPP-Beladung von

3. Ergebnisse und Diskussion

5.55 μM zu erkennen. Eine Steigerung der Konzentration bis hin zu 15.15 μM führte zu erhöhter Dunkeltoxizität, wobei dieses Ergebnis mit einem Fehler von $\pm 30\%$ starken Schwankungen unterlag. Insgesamt konnte ein *killing* von bis zu 70 % verzeichnet werden. Der Vergleich mit der Wirksamkeit des freien *mTHPP* zeigte, dass dieser bei niedriger Konzentration (2 μM) wirksamer war als die Partikel mit vergleichbarer Beladung. Bei höherer Konzentration (10 μM) zeigte das freie *mTHPP* aber eine erhebliche Dunkeltoxizität, die selbst bei der dreifachen Konzentration (15.15 μM) des *mTHPP* an den Calciumphosphat-Partikeln nicht erreicht wurde.

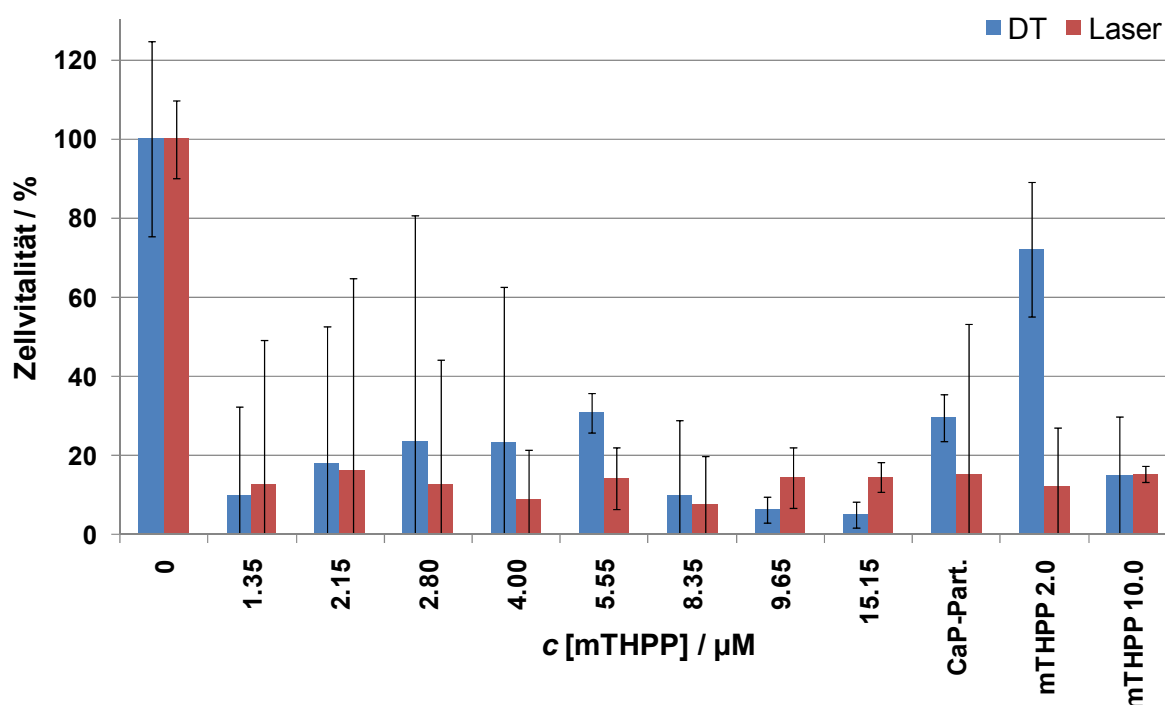


Abbildung 74: Ergebnisse der Zelltests von CaP/PSS/*mTHPP*-Nanopartikeln an der Makrophagen-Zelllinie J774A.1; „CaP-Part.“ zeigt das Ergebnis von unbeladenen CaP/PSS-Nanopartikeln; „*mTHPP* 2.0“ und „10.0“ zeigen die Ergebnisse des freien Farbstoffes entsprechender Konzentration.

Die Partikel des gleichen Ansatzes wurden weiter an der J774A.1-Zelllinie getestet (Abbildung 74). Hier zeigte sich deutlich, dass die Partikel eine hohe Dunkeltoxizität aufwiesen. Dies war unabhängig von der *mTHPP*-Beladung, denn auch die unbeladenen Partikel zeigten eine vergleichbare Toxizität. Die Ergebnisse schwankten erheblich, was an den sehr großen Fehlerbalken zu erkennen ist.

Die Auswirkungen von Calciumphosphat-Partikel von 1-2 μM Größe auf Makrophagen wurde von Nadra et al. untersucht. Laut diesen Ergebnissen werden

die Partikel von den Makrophagen aufgenommen und lösen so die Produktion von proinflammatorischen Cytokinen aus. Eine toxische Wirkung der Partikel wurde nicht thematisiert.^[195,196] Li et al. beschrieben im Gegensatz dazu die toxische Wirkung von Calciumphosphat-haltigen arteriellen Ablagerungen auf Makrophagen der Zelllinie J744.^[197] Der Grund für die Toxizität dieser Ablagerungen wird in diesem Artikel nicht angegeben. In einem Artikel von Ewence et al. wurde die toxische Wirkung von Calciumphosphat-Nanopartikeln auf vaskuläre glatte Muskelzellen untersucht. Die Toxizität der Partikel wird hier auf die Erhöhung des Calciumgehaltes in der Zelle durch die Aufnahme der Partikel zurückgeführt.^[198] Es ist davon auszugehen, dass die hohe Dunkeltoxizität an der massiven Aufnahme der Calciumphosphat-Nanopartikel durch die Makrophagen liegt.

Um nun zu überprüfen, ob die Oberflächenladung der Calciumphosphat-Nanopartikel einen Einfluss auf die Aufnahme der Partikel in den verschiedenen Zellen oder auf die phototoxische Wirkung hat, wurden die CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel der 2. Serie mit einer weiteren Polymerschicht umhüllt. Bei dem verwendeten Polymer handelte es sich um PAH, einen positiv geladenen Polyelektrolyten. Die getesteten CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel hatten die gleiche lokale *m*THPP-Beladung wie die CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel der 2. Serie. Die unterschiedlichen *m*THPP-Konzentrationen in den Dispersionen sind durch die Verdünnung bei Zugabe der PAH-Lösung und die anschließende Aufreinigung der Partikel zu erklären. Es befanden sich demnach verglichen mit den eingesetzten CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikeln nur halb so viele CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel in den getesteten Dispersionen. Abbildung 75 zeigt die Ergebnisse der Zelltests an der HT29-Zelllinie.

3. Ergebnisse und Diskussion

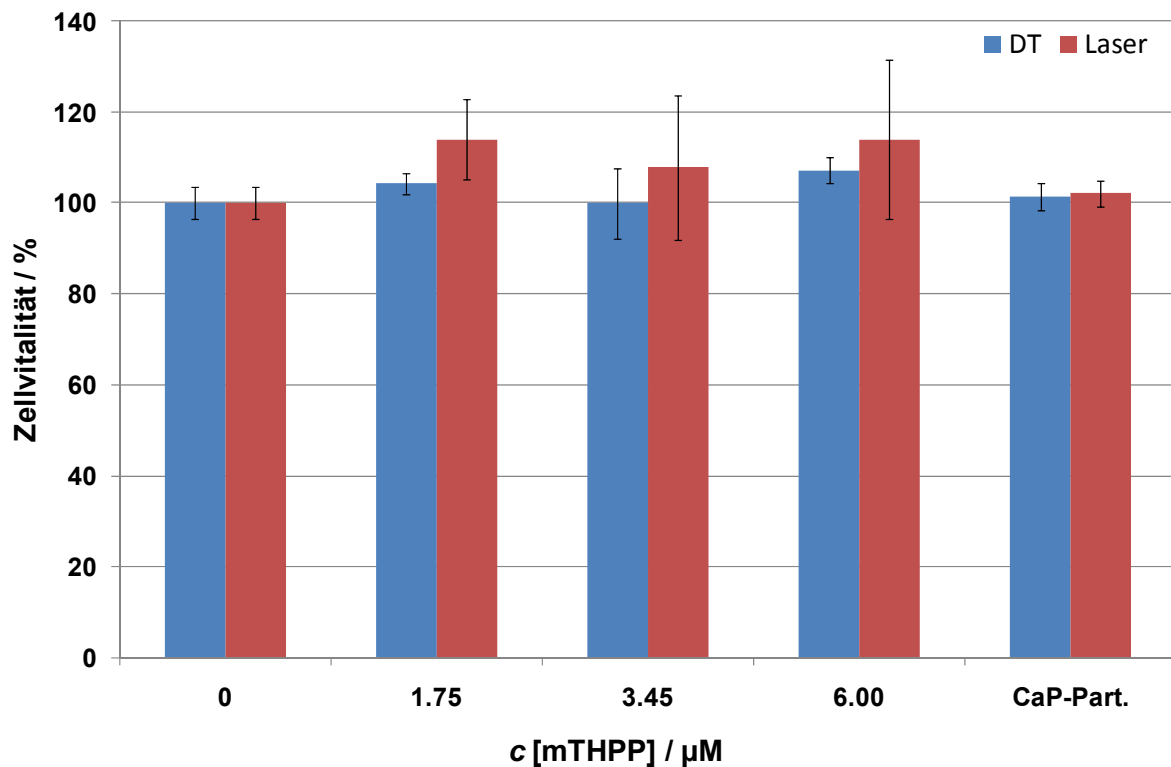


Abbildung 75: Ergebnisse der Zelltests von CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikeln mit verschiedenen *m*THPP-Beladungen an der Kolonkarzinom-Zelllinie HT29; „CaP-Part.“ zeigt das Ergebnis von unbeladenen CaP/PSS/PAH-Nanopartikeln

Die Partikel zeigten keinerlei toxische Wirkung auf die HT29-Zellen. Somit hat im Falle dieser Zelllinie die Oberflächenladung keinen Einfluss auf die Phototoxizität.

3. Ergebnisse und Diskussion

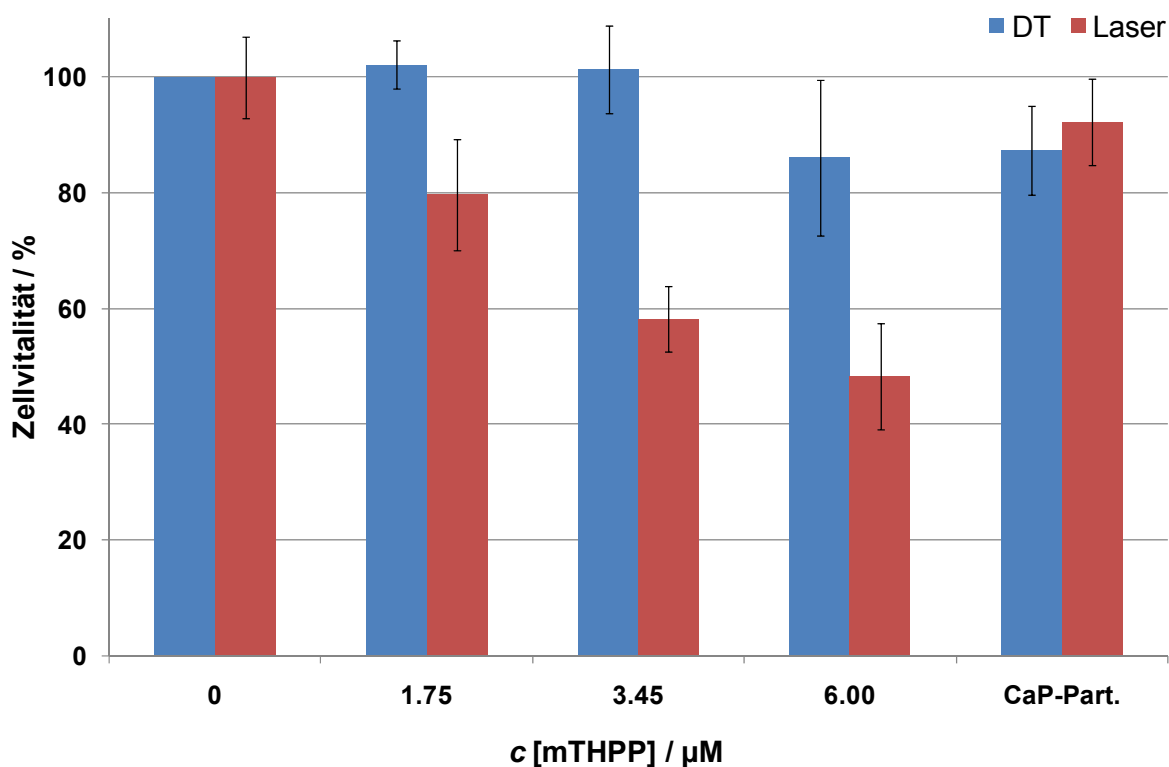


Abbildung 76: Ergebnisse der Zelltests von CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikeln mit verschiedenen *m*THPP-Beladungen an der Synoviozyten-Zelllinie HIG-82; „CaP-Part.“ zeigt das Ergebnis von unbeladenen CaP/PSS/PAH-Nanopartikeln.

Die gleiche Testreihe wurde an der HIG-82-Zelllinie durchgeführt (Abbildung 76). Die CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel zeigen zwar eine phototoxische Wirkung, die aber die Wirksamkeit der CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel nicht erreicht. Die Phototoxizität aber auch die Dunkeltoxizität steigt mit höheren *m*THPP-Konzentrationen. Die unbeladenen CaP/PSS/PAH-Nanopartikel zeigen eine geringe Dunkeltoxizität. Diese ist wiederum vergleichbar mit der Dunkeltoxizität der CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel.

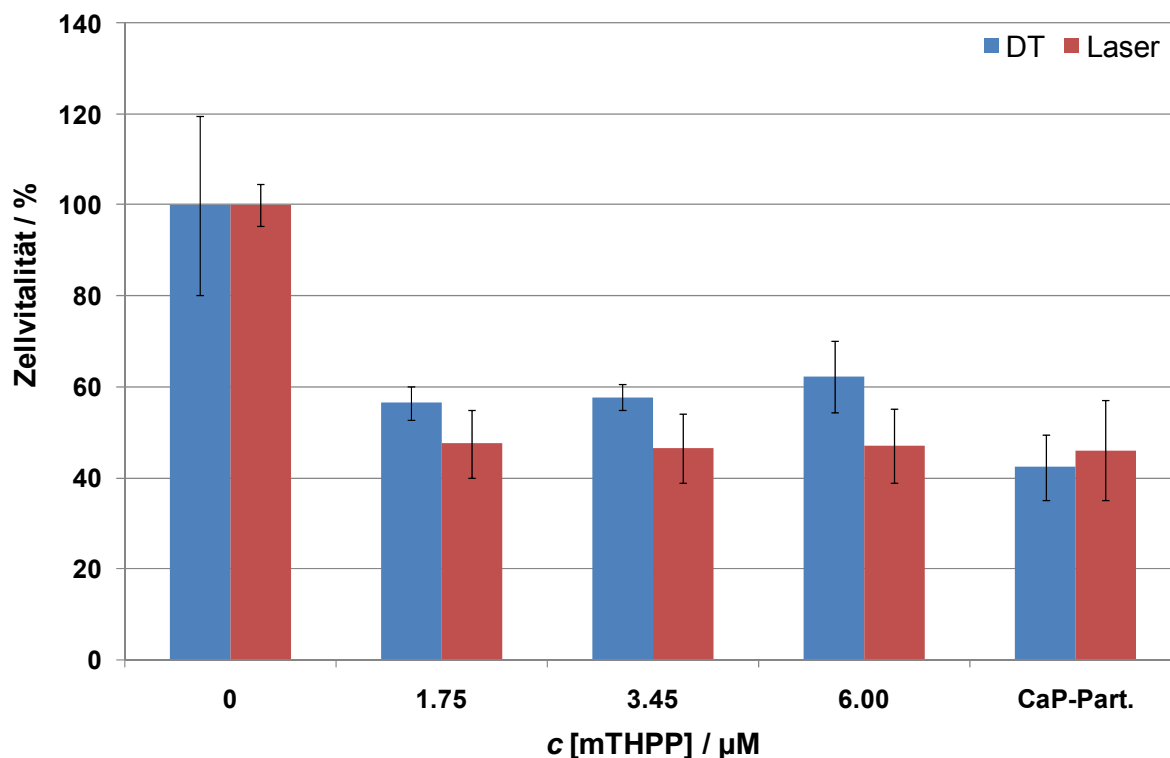


Abbildung 77: Ergebnisse der Zelltests von CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikeln mit verschiedenen *m*THPP-Beladungen an der Makrophagen-Zelllinie J774A.1; „CaP-Part.“ zeigt das Ergebnis von unbeladenen CaP/PSS/PAH-Nanopartikel.

Die CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel wurden ebenfalls an der J774A.1-Zelllinie getestet (Abbildung 77). Die Ergebnisse der Zelltests von CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikeln sind vergleichbar mit den Partikeln ohne weitere PAH-Schicht. Die CaP/PSS/PAH-Nanopartikel waren auch ohne *m*THPP-Beladung toxisch für die Makrophagen. Insgesamt ist die Toxizität um ca. 20 % reduziert. Es liegt nahe, dass durch die Verdünnung der Calciumphosphat-Partikelkonzentration weniger Partikel aufgenommen wurden. Dies spricht für die Annahme, dass der lokale Calciumgehalt in den Zellen die toxische Wirkung auslöst.

3.4.3.5 Charakterisierung der mit CMC funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel

Die Größenverteilung der wie in Kapitel 3.4.2.4 beschrieben dargestellten mit CMC-funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel (CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel) wurde mit Hilfe der DLS bestimmt. Abbildung 78 zeigt die Größenverteilung von drei Ansätzen mit unterschiedlicher *m*THPP-

3. Ergebnisse und Diskussion

Beladung. Zusätzlich ist die Größenverteilung von CaP/CMC-Nanopartikeln ohne *m*THPP-Beladung zum Vergleich dargestellt.

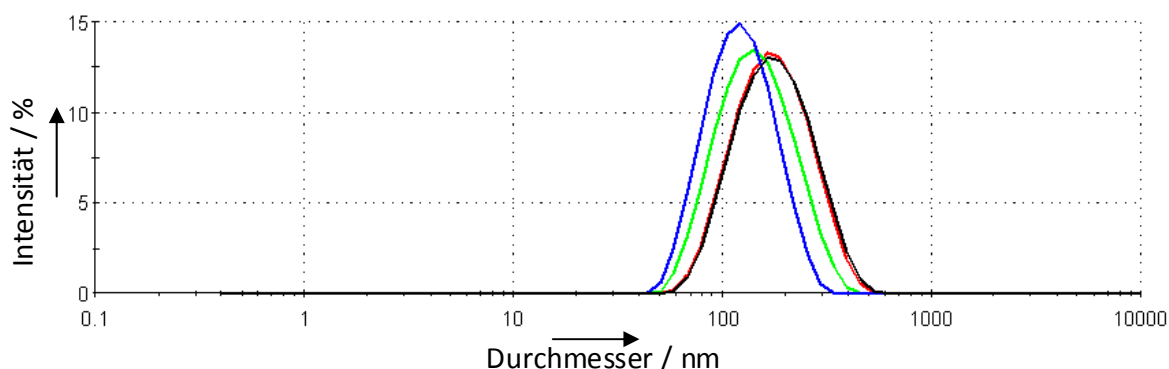


Abbildung 78: Größenverteilung der CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel nach der Aufreinigung; schwarz: ohne *m*THPP, rot: 1 mL, grün 0.5 mL, blau: 0.25 mL.

Ebenso wie bei den CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikeln zeigte sich eine Verkleinerung des Partikeldurchmessers mit steigender *m*THPP-Beladung. Von 155 auf 113 nm (\emptyset PDI 0.130). Die Größe der unbeladenen Partikel betrug 161 nm. Das Zetapotential war unabhängig von der Farbstoffmenge und betrug für alle Partikeldispersionen mit und ohne *m*THPP-Beladung nach der Aufreinigung -26 ± 4 mV. Obwohl die Zetapotentiale unter -30 mV lagen, waren alle Dispersionen mehrere Wochen stabil. Abbildung 79 zeigt eine REM-Aufnahme der CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel. Die Aufnahme zeigt 50-100 nm große Partikel.

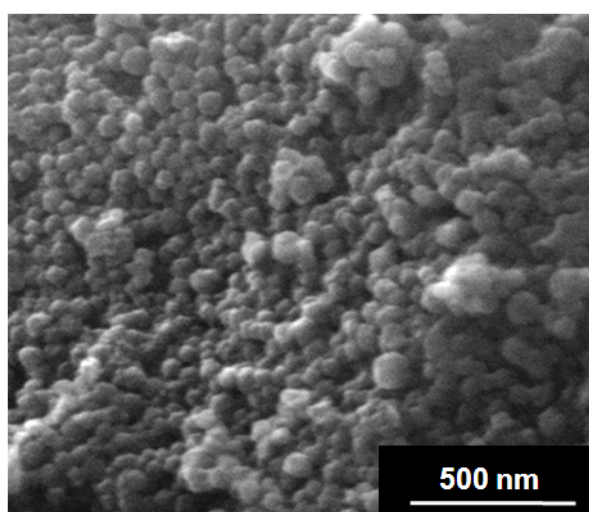


Abbildung 79: REM-Aufnahme der CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel.

3. Ergebnisse und Diskussion

Wie auch bei den CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikeln wurde die quantitative Bestimmung des *m*THPP-Gehalts an den Partikeln mit Hilfe der UV-Spektroskopie realisiert. Hierzu wurden *m*THPP-Lösungen bekannter Konzentration vermessen, um so eine Kalibrationsreihe (Abbildung 53) anfertigen zu können. Die *m*THPP-Lösungen wurden in CMC-Lösung angesetzt, um für die Aufnahme der Kalibrationsgeraden eine möglichst gleichwertige chemische Umgebung wie an den Partikeln gewährleisten zu können. Abbildung 65 zeigt drei Absorptionsspektren von CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikeln mit drei verschiedenen *m*THPP-Konzentrationen. Zu sehen sind die für *m*THPP typische Q-Banden im Bereich von 520-650 nm und die intensive Soretbande bei 422 nm^[194], die auch für die Bestimmung der Kalibrationsgeraden verwendet wurde. Außerdem zeigte sich, noch ausgeprägter als bei den CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikeln, eine Peakverbreiterung mit steigendem *m*THPP-Gehalt. Die entsprechenden Fluoreszenzmessungen ergaben, dass keine der drei Proben Fluoreszenz zeigte. Durch den erhöhten Sauerstoffgehalt am CMC-Gerüst im Gegensatz zu PSS ist es in diesem Fall zum *quenching* der Fluoreszenz gekommen.^[199]

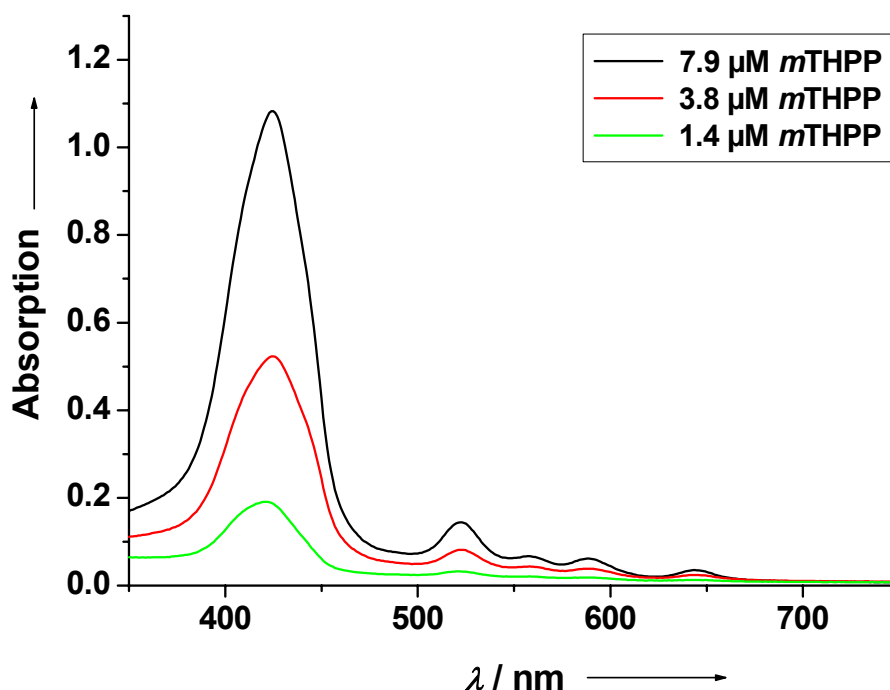


Abbildung 80: UV-Spektren von mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln; drei verschiedene Beladungskonzentrationen.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Zusammensetzung der Partikel wurde über thermogravimetrische Analyse und Elementaranalyse (Atomabsorptionsspektroskopie, CHN-Analyse) bestimmt. Abbildung 81 zeigt die Thermogramme von mit CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikeln im Vergleich. Die thermogravimetrische Analyse wurde unter Sauerstoffatmosphäre bei einer Flussrate von 50 mL min⁻¹ in einem offenen Al₂O₃-Tiegel durchgeführt. Die Einwaagen betrugen 11.9 mg für die Partikel ohne *m*THPP- und 12.0 mg für die Partikel mit *m*THPP-Beladung.

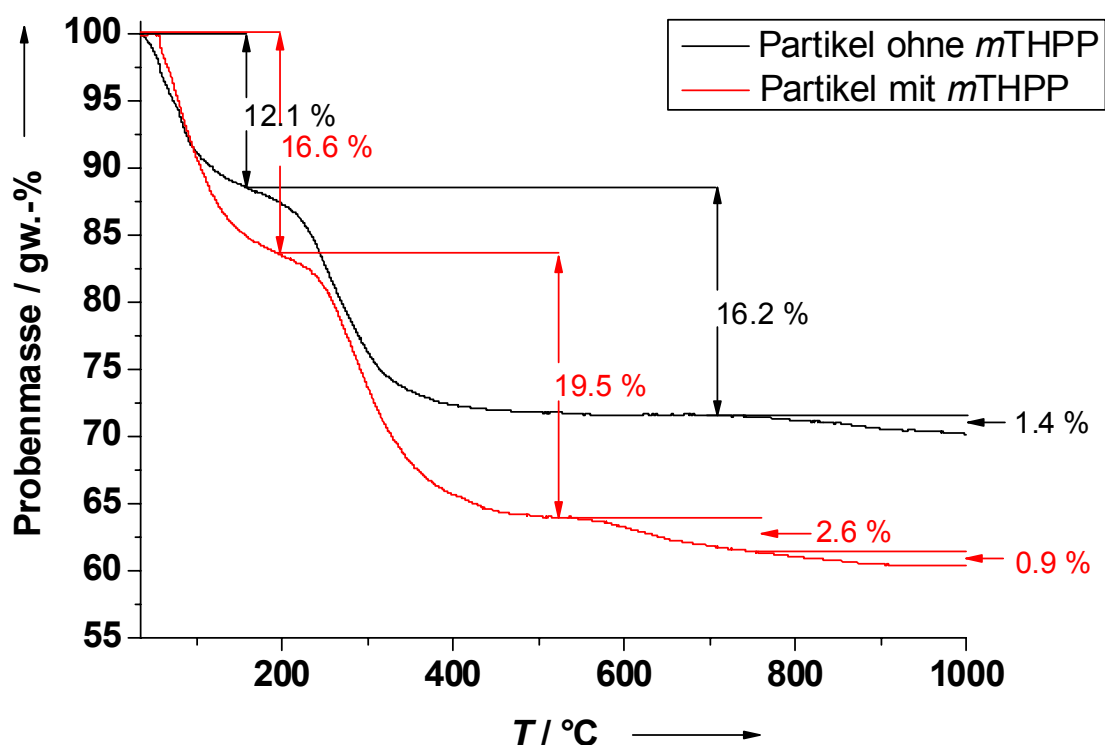


Abbildung 81: TGA der CaP/CMC-Nanopartikeln mit und ohne *m*THPP-Beladung in einer Sauerstoffatmosphäre (50 mL min⁻¹) und mit einer Heizrate von 1 K min⁻¹.

Die erste Zersetzungsstufe für die Partikel mit *m*THPP-Beladung betrug 12.1 % und beschreibt den Wasserverlust der Probe. Dieser ist geringer als der Wasserverlust der unbeladenen Probe von 16.6 %. Der zweite Zersetzungsschritt von 19.5 % zeigt den Abbrand des Polymers, der 3.3 % größer als der Massenverlust der unbeladenen Probe ist. Die dritte Zersetzungsstufe von 2.6 % beschreibt den *m*THPP-Abbrand der *m*THPP-beladenen Probe und fehlt erwartungsgemäß für die unbeladene Probe. Die *m*THPP-Beladung wurde im Vorfeld mit Hilfe der UV-Spektroskopie quantifiziert und ergab 10.0 %. Demnach ist davon auszugehen, dass

3. Ergebnisse und Diskussion

ein Anteil des *m*THPP zusammen mit dem Polymer abbrennt. Aus den elementaranalytischen Daten lässt sich ein Polymergehalt von 7.4 % berechnen. Dies steht im Einklang mit der Annahme, dass das *m*THPP die Polymeradsorption aufgrund von elektrostatischer Adsorption hemmt. Der letzte Massenverlust von 0.9 % beschreibt den CO₂-Verlust aus dem CO₃²⁻-Anteil der Calciumphosphat-Partikel. Folglich muss die mineralische Phase der Probe 1.2 % CO₃²⁻ enthalten. Der Anteil an Calciumphosphat betrug laut TG 64.0 %. das Ca/P-Verhältnis betrug 1.76, was etwas über dem Verhältnis der Stöchiometrie von Hydroxylapatit liegt. Der Anteil der mineralischen Phase in den unbeladenen Partikeln betrug 71.7 % mit einem Ca/P-Verhältnis von 1.57, was einem Calcium-defizitärem Hydroxylapatit entspricht. Die modifizierte Darstellungsmethode durch die Mischung der Phosphat- mit der Farbstoffkomponente vor der Fällung scheint die Bildung der Partikel in ihrer Zusammensetzung zu beeinflussen. Außerdem ist der Gesamtgehalt der mineralischen Phase ca. 8 % geringer als bei den Partikeln ohne *m*THPP-Beladung. Dies führt zu der Annahme, dass die Mischung der Phosphat- mit der Farbstoffkomponente die Calciumphosphat-Bildung hemmt. Abbildung 82 zeigt einen Vergleich der Röntgenpulverdiffraktogramme beider Partikelarten.

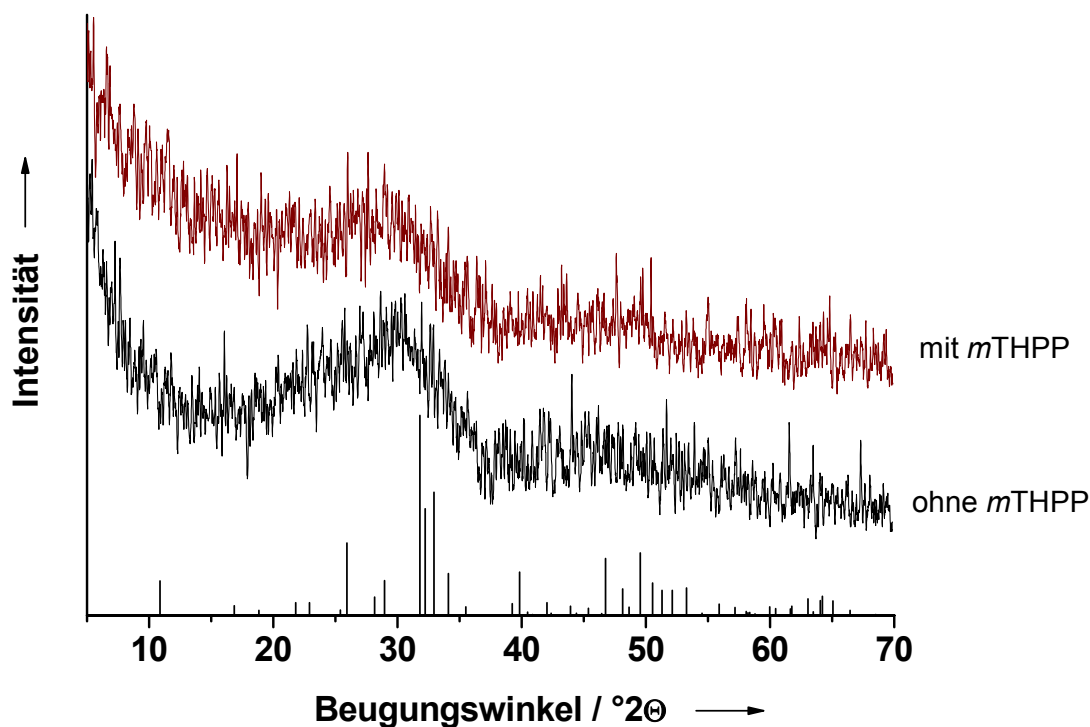


Abbildung 82: Vergleich der Röntgenpulverdiffraktogramme von *m*THPP-beladenen (violett) und unbeladenen (schwarz) CaP/CMC-Nanopartikeln; zusätzlich sind die berechneten Reflexlagen für Hydroxylapatit dargestellt.

Die abgebildeten Diffraktogramme unterscheiden sich nur unwesentlich voneinander. Es zeigt sich, dass beide Partikelarten vollständig röntgenamorph sind.

3.4.3.6 Charakterisierung der mit CMC/PEI funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikel

Die CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel konnten durch die Auftragung einer weiteren entgegengesetzt geladenen Polymerschicht nach der *LbL*-Methode (siehe Kap. 3.3) umgeladen werden. Es wurde PEI zur Umladung benutzt (CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel). Die Darstellung der Partikel erfolgte wie in Kapitel 3.4.2.5 beschrieben. Die Größenverteilung wurde mit Hilfe der DLS bestimmt. Abbildung 83 zeigt den Vergleich der Größenverteilung von CaP/CMC/*m*THPP- und CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikeln.

3. Ergebnisse und Diskussion

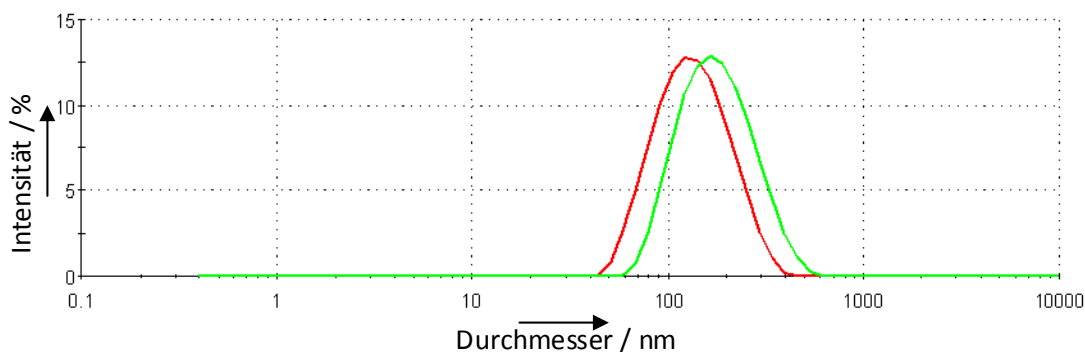


Abbildung 83: Vergleich der Größenverteilung der CaP/CMC/*m*THPP- (rot) und CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel (grün) nach der Aufreinigung.

Die CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel zeigten einen um 30 nm erhöhten Partikeldurchmesser. Die Größenverteilung zeigte ein Maximum bei 160 nm (PDI 0.172). Das Zetapotential wechselte durch die Umladung zu einem positiven Wert von 31 ± 5 mV. Die Partikel waren für einige Wochen stabil. Abbildung 71 zeigt eine REM-Aufnahme der CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel. Trotz der durchgeführten Aufreinigung durch Zentrifugation scheint der Polymeranteil sehr hoch zu sein und die Partikel untereinander zu verkleben. Es sind vereinzelt Partikel mit einem Durchmesser von ca. 100 nm zu erkennen.

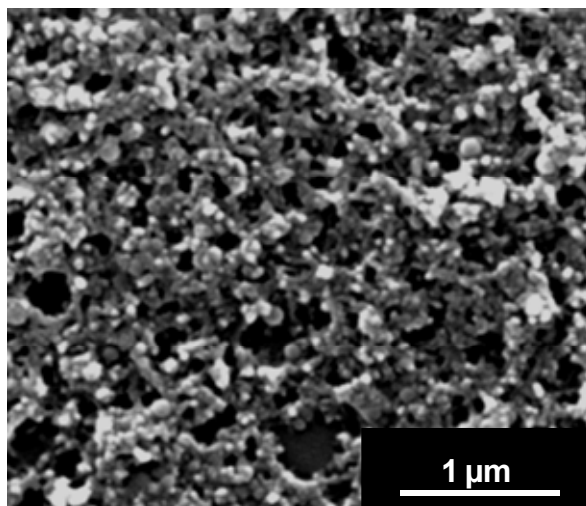


Abbildung 84: REM-Aufnahme der CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel.

3.4.3.7 Ergebnisse der Zelltests der CaP/CMC/*m*THPP- und CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel

Die mit CaP/CMC/*m*THPP- und CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel wurden in zwei Konzentrationsserien an den Zelllinien HT29, HIG-82 und J774A.1 *in vitro* getestet. Zusätzlich wurden die CaP/CMC- und CaP/CMC/PEI-Nanopartikel ohne *m*THPP-Beladung auf Zelltoxizität getestet. Tabelle 14 zeigt die eingesetzten Serien.

Tabelle 14: Konzentrationsserien der durchgeführten *in vitro*-Tests

Serie	1	2
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP-		
<i>c</i> (<i>m</i> THPP) / μM	0; 1.4; 3.9; 7.9	-
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP/PEI		
<i>c</i> (<i>m</i> THPP) / μM	-	6.7

Die Zelltests wurden nach dem im Experimentellen Aufbau (Kapitel 3.4.2.7) beschriebenen Protokoll durchgeführt. Demnach wurden die Partikeldispersionen in jedem Well 1:1 mit Medium (RPMI 1640 ohne Phenolrot, 10 % Kälberserum) verdünnt. Die effektiven *m*THPP-Konzentrationen waren somit halb so groß wie in Tabelle 14 angegeben. Die Konzentration der CaP/CMC/*m*THPP/-Nanopartikel in jedem Well betrug ca. 17 mg / L. Die Konzentration der CaP/PSS/*m*THPP/PEI-Nanopartikel in jedem Well betrug für die CaP/PSS/*m*THPP/PEI-Nanopartikel mit der 6.7 μM Beladung an *m*THPP ca. 15 mg / L. Die Ergebnisse der Testreihe der CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel an HT29 sind in Abbildung 85 graphisch dargestellt.

3. Ergebnisse und Diskussion

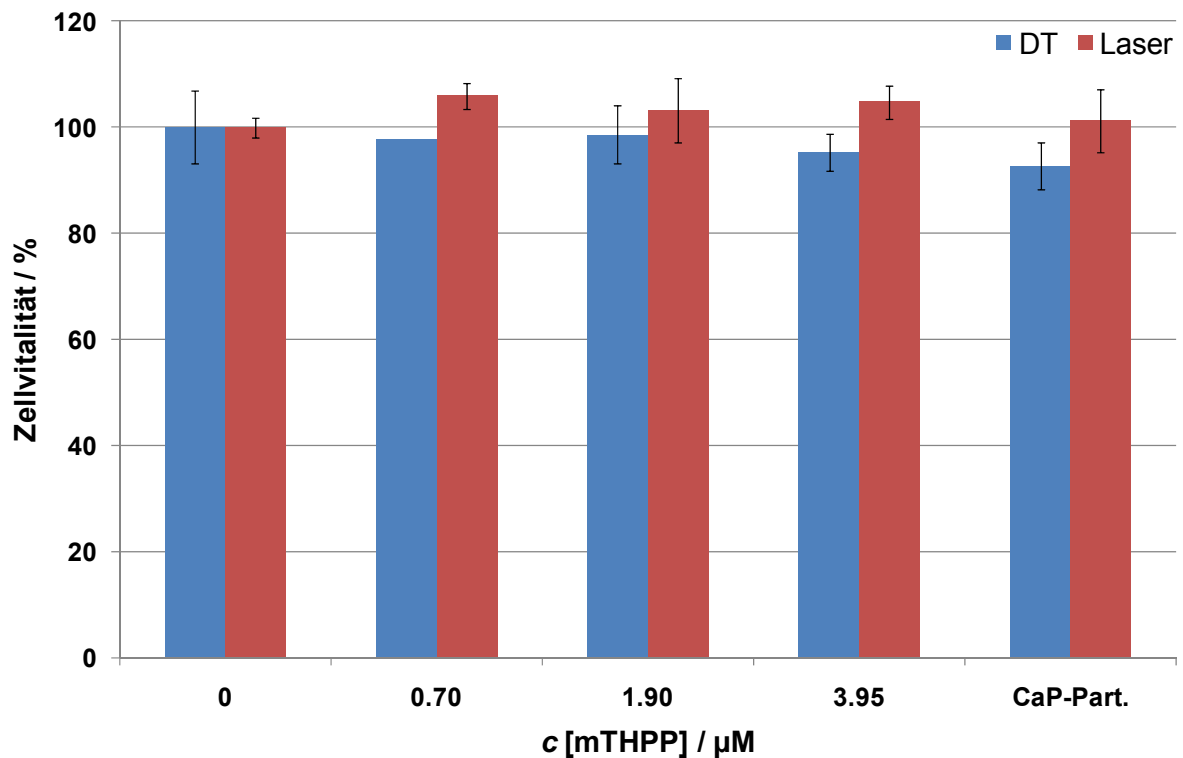


Abbildung 85: Ergebnisse der Zelltests von CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikeln mit verschiedenen *m*THPP-Beladungen an der Kolonkarzinom-Zelllinie HT29; „CaP-Part.“ zeigt das Ergebnis von unbeladenen CaP/CMC-Nanopartikeln.

Die CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel der 1. Serie zeigten keine Phototoxizität gegenüber der HT29-Zelllinie.

3. Ergebnisse und Diskussion

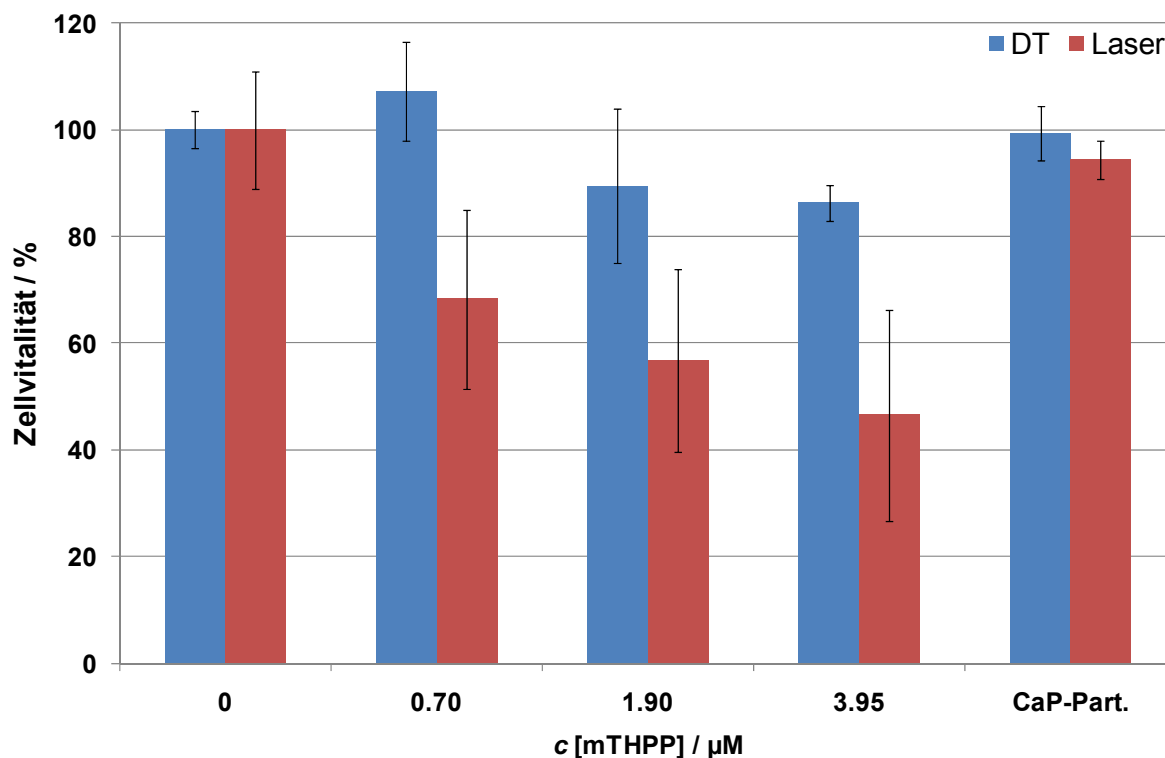


Abbildung 86: Ergebnisse der Zelltests von CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikeln mit verschiedenen *m*THPP-Beladungen an der Synoviozyten-Zelllinie HIG-82; „CaP-Part.“ zeigt das Ergebnis von unbeladenen CaP/CMC-Nanopartikeln.

Die Partikel des gleichen Ansatzes wurden weiter an der HIG-82-Zelllinie getestet (Abbildung 86). Mit steigender *m*THPP-Konzentration an den Partikeln stiegen auch die Dunkel- und Phototoxizität. Insgesamt konnte ein *killing* von 30 bis 60 % verzeichnet werden. Die unbeladenen CaP/CMC-Nanopartikel zeigten keine Dunkel- und Phototoxizität. Die CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel zeigten eine vergleichbare Phototoxizität wie die CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel mit entsprechender *m*THPP-Konzentration. Dabei schien nicht die Beladungsdichte an den Partikeln, sondern die effektive *m*THPP-Konzentration in der Dispersion ausschlaggebend für die Phototoxizität zu sein. Die Beladungsdichte an den CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikeln ist im Mittel viermal höher als an den CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikeln. Dies wird aber durch die präparativ bedingte Verdünnung der CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel auf 1/5 der Ursprungskonzentration relativiert.

3. Ergebnisse und Diskussion

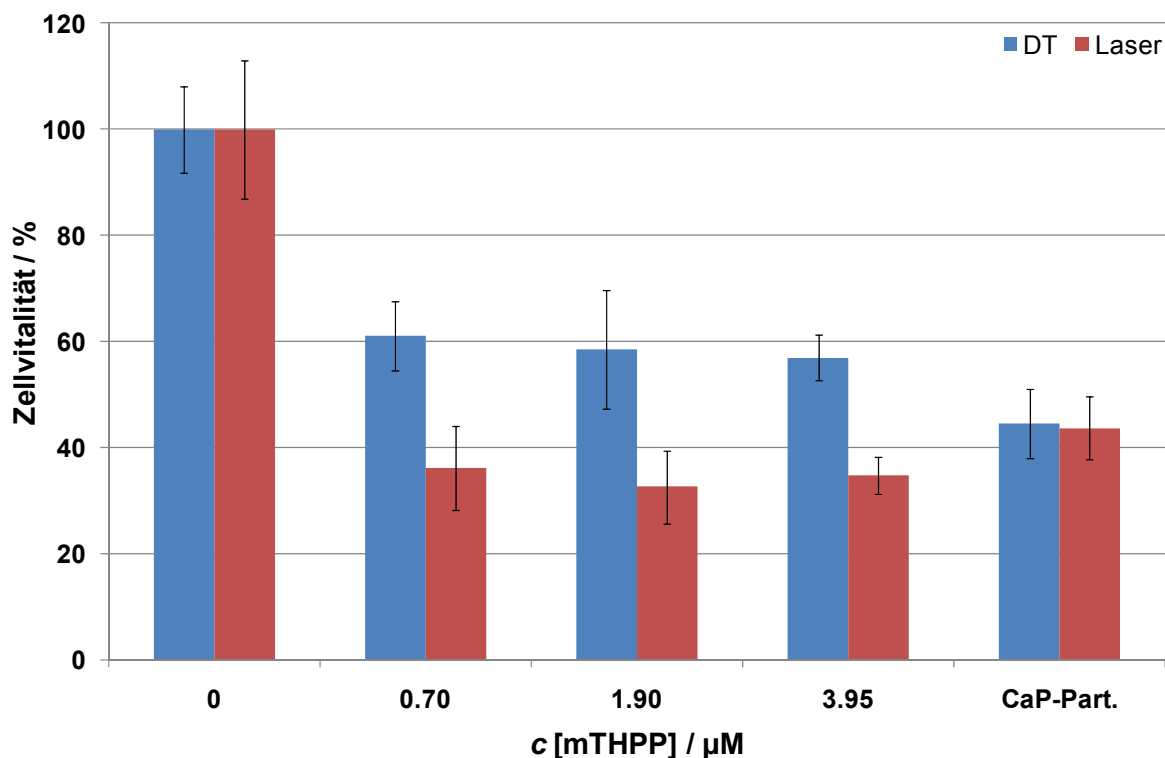


Abbildung 87: Ergebnisse der Zelltests von CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikeln mit verschiedenen *m*THPP-Beladungen an der Makrophagen-Zelllinie J774A.1; „CaP-Part.“ zeigt das Ergebnis von unbeladenen CaP/CMC-Nanopartikeln.

Die CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel wurden ebenfalls an der J774A.1-Zelllinie getestet (Abbildung 87). Die Ergebnisse der Zelltests von CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikeln sind vergleichbar mit den Ergebnissen der CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel. Die CaP/CMC-Nanopartikel waren auch ohne *m*THPP-Beladung toxisch für die Makrophagen. Das Maß der Toxizität war um ca. 20 % geringer als bei den vergleichbaren CaP/PSS-Nanopartikeln. Die unterschiedlichen *m*THPP-Konzentrationen hatten keinen Einfluss auf die prozentuale Phototoxizität.

Um nun wiederum zu überprüfen, ob die Oberflächenladung der Calciumphosphat-Nanopartikel einen Einfluss auf die Aufnahme der Partikel in den verschiedenen Zellen oder auf die phototoxische Wirkung hat, wurden die CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel mit einer weiteren Polymerschicht umhüllt (2. Serie). Bei dem verwendeten Polymer handelte es sich um PEI, einen positiv geladenen Polyelektrolyten. Im Gegensatz zu allen anderen vorgestellten Systemen wurden hier die *m*THPP-Konzentrationen von 1.0 μM durch die Verdünnung der 3.35 μM Partikeldispersion erreicht. Demnach wurde auch die Calciumphosphat-

3. Ergebnisse und Diskussion

Partikelkonzentration im Well von ca. 15 mg / L auf 9 mg / L erniedrigt. Analog wurden auch die entsprechenden Systeme in den gleichen Verdünnungen ohne *m*THPP-Beladung getestet. Abbildung 88 zeigt die Ergebnisse der Zelltests an der HT29-Zelllinie.

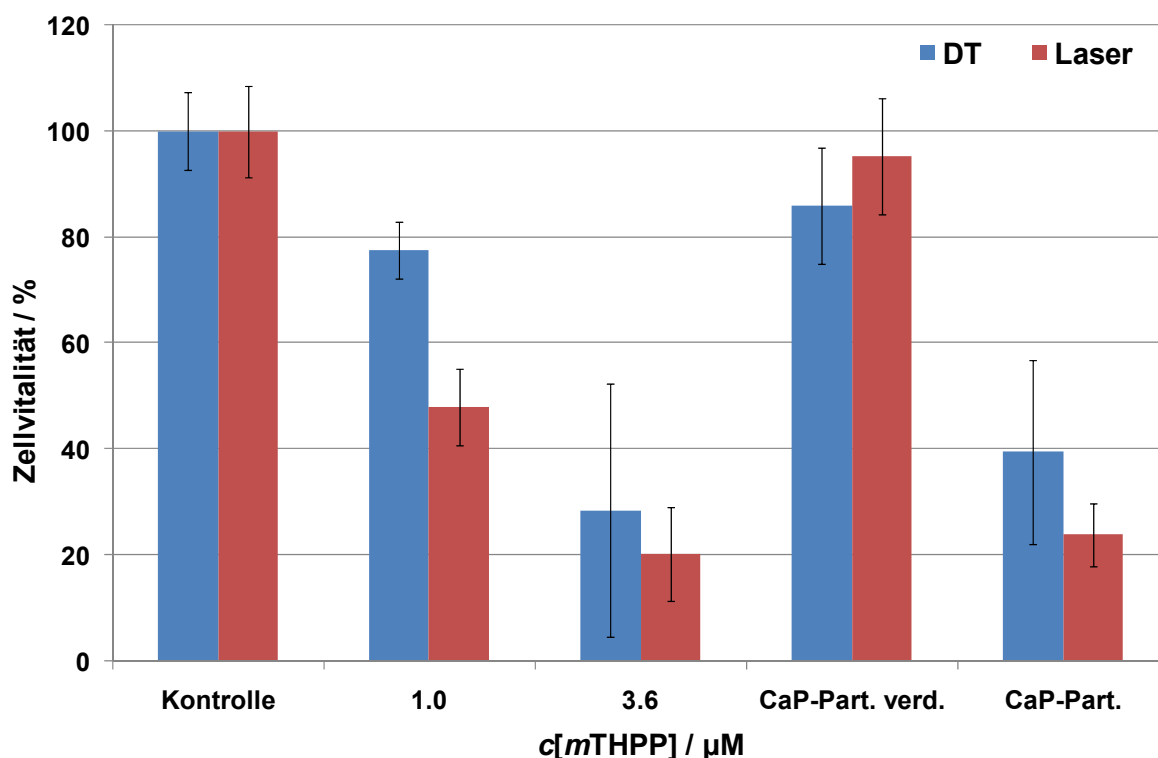


Abbildung 88: Ergebnisse der Zelltests von CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikeln an der Kolonkarzinom-Zelllinie HT29 in zwei Verdünnungen; „CaP-Part. verd.“ und „CaP-Part.“ zeigen die Ergebnisse von unbeladenen CaP/CMC/PEI-Nanopartikeln in zwei Verdünnungen.

Hier zeigte sich insgesamt eine hohe Dunkeltoxizität. Für die mit 1.0 μM *m*THPP-beladenen und unbeladenen Partikel der gleichen Verdünnung zeigte sich eine Dunkeltoxizität von 15-20 %. Die *m*THPP-beladenen Partikel zeigten eine Phototoxizität von ca. 50 %. Die unbeladenen Partikel der gleichen Verdünnung zeigten keine Phototoxizität. Die CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel höherer Konzentration und damit auch größerer *m*THPP-Konzentration zeigten eine hohe Dunkeltoxizität von ca. 70 % und innerhalb der Fehlergrenzen eine vernachlässigbare Phototoxizität. Die unbeladenen Partikel entsprechender Konzentration zeigten das gleiche Verhalten, sodass davon auszugehen ist, dass die höhere Partikelkonzentration der CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel toxisch auf die

3. Ergebnisse und Diskussion

HT29 Zelllinie wirkte. Die PEI-Schicht um die CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel scheint die Aufnahme der Partikel in die Zellen zu begünstigen, was schließlich ähnlich wie bei den zuvor beschriebenen Tests aller Systeme an der J774A.1-Zelllinie, zum Zelltod führte. Das gleiche Bild zeigte sich bei den Tests der CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel an der HIG-82 und J774A.1-Zelllinie. Abbildung 89 zeigt die Tests an der HIG-82-Zelllinie und Abbildung 90 zeigt die Tests an der J774A.1-Zelllinie.

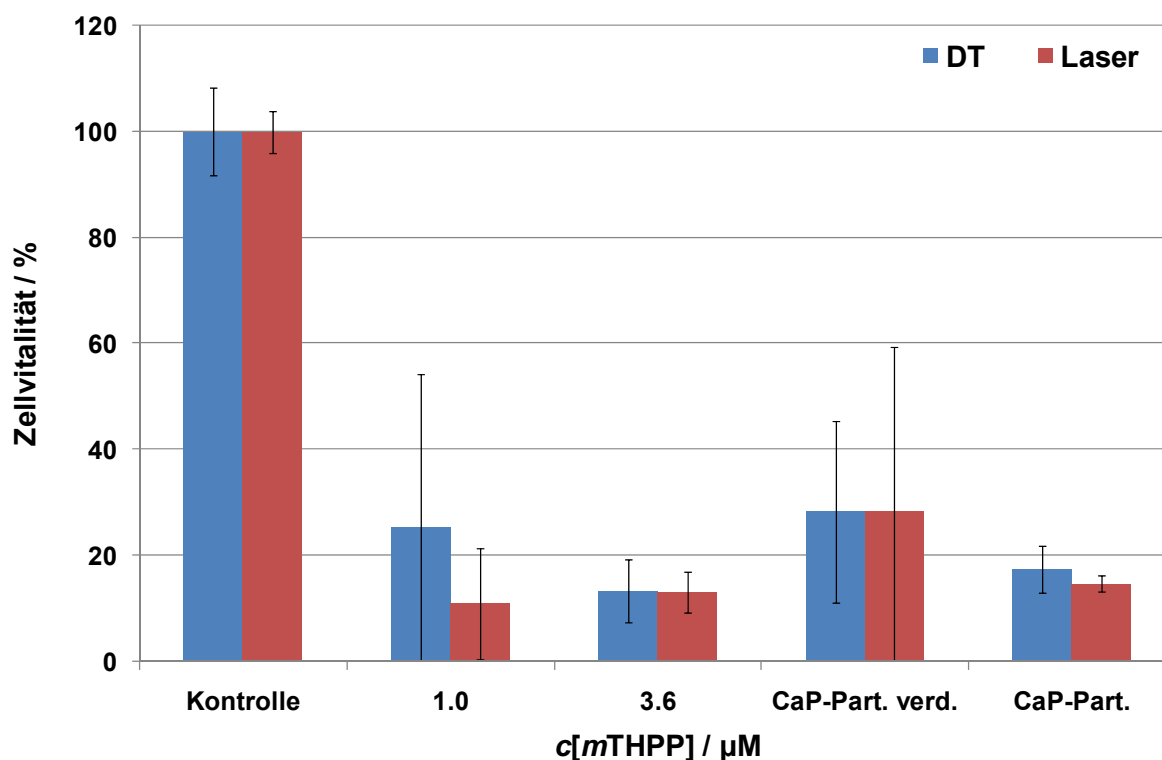


Abbildung 89: Ergebnisse der Zelltests von CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikeln an der Synoviozyten-Zelllinie HIG-82 in zwei Verdünnungen; „CaP-Part. verd.“ und „CaP-Part.“ zeigen die Ergebnisse von unbeladenen CaP/CMC/PEI-Nanopartikeln in zwei Verdünnungen.

3. Ergebnisse und Diskussion

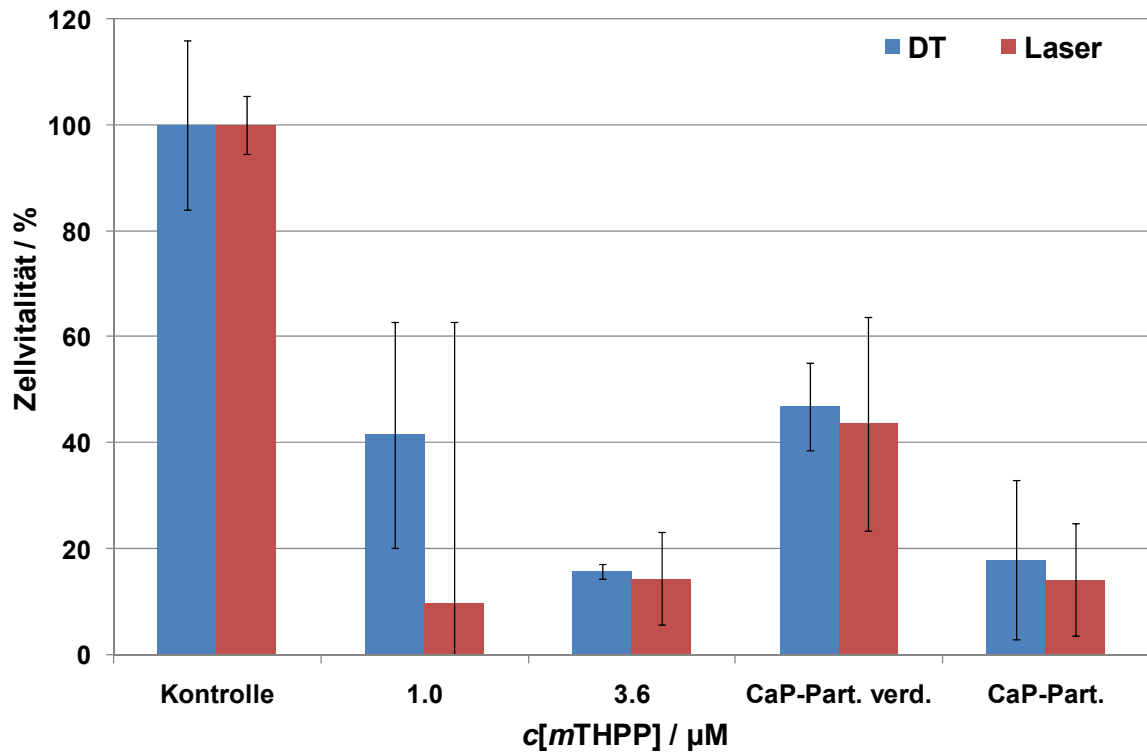


Abbildung 90: Ergebnisse der Zelltests von CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikeln an der Makrophagen-Zelllinie J774A.1 in zwei Verdünnungen; „CaP-Part. verd.“ und „CaP-Part.“ zeigen die Ergebnisse von unbeladenen CaP/CMC/PEI-Nanopartikeln in zwei Verdünnungen.

In beiden Fällen zeigte sich sowohl für die *m*THPP-beladenen und auch unbeladenen CaP/CMC/PEI-Nanopartikel in beiden Partikelkonzentrationen eine erhöhte Zelltoxizität, die vermutlich auf die gesteigerte Aufnahme der Partikel durch die Zellen zurückzuführen ist.

3.4.3.8 Ergebnisse der Bakterientests

Die verschiedenen Partikeldispersionen wurden an Bakterienkulturen auf ihre phototoxische Wirkung hin getestet. Tabelle 15 fasst die getesteten Partikeldispersionen mit den effektiven Farbstoffkonzentrationen zusammen:

Tabelle 15: Zusammenfassung der an Bakterienkulturen getesteten Calciumphosphat-Nanopartikelsysteme

Partikelsystem	c(Farbstoff) / μM
CaP/PSS/MB	5
	12
CaP/PSS/ <i>m</i> THPP	0
	0.835
CaP/PSS/ <i>m</i> THPP/PAH	0
	0.600
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP	0
	0.395
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP/PEI	0
	0.355

Die verwendeten Bakterienkulturen waren *Staphylococcus aureus*, ein Gram-positiver Stamm und *Pseudomonas aeruginosa*, ein Gram-negativer Stamm. Der Unterschied zwischen Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien ist die Art der Membran. Abbildung 91 zeigt beide Bakterienmembranen im Vergleich.

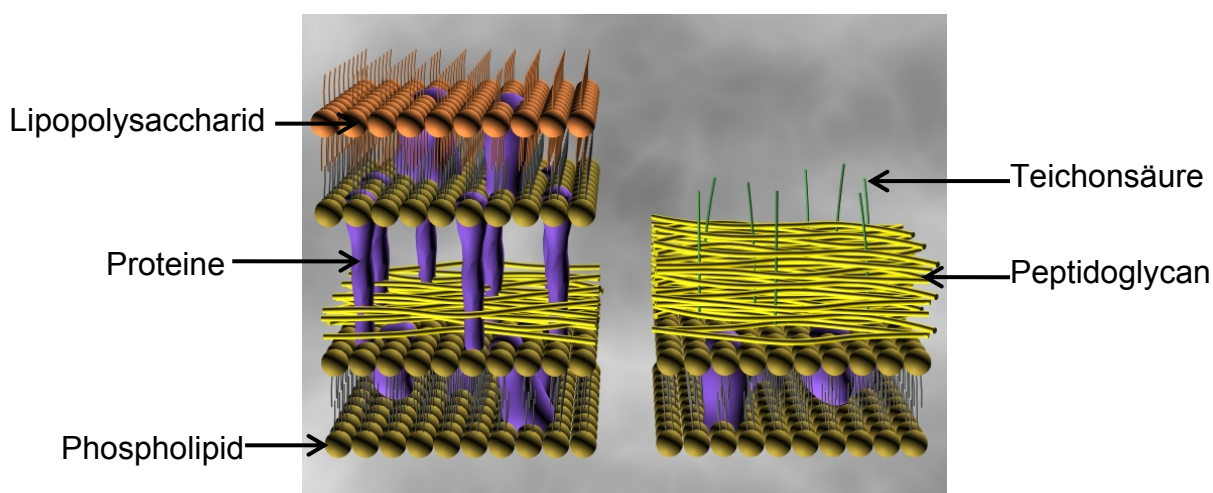


Abbildung 91: Vergleich der Membranen von Gram-negativen (links) und Gram-positiven (rechts) Bakterien (Bild mit freundlicher Genehmigung von Peter Sforza).

3. Ergebnisse und Diskussion

Durch die komplexe Art der Membran der Gram-negativen Bakterien ist das Eindringen von Photosensibilisatoren erschwert. In der Literatur wird beschrieben, dass die am vielversprechendsten Photosensibilisatoren solche mit positiver Ladung sind.^[200-202] Zum Beispiel ist das positiv geladene Methylenblau (MB) ein etablierter Photosensibilisator im antibakteriellen Einsatz.^[191] Aus diesem Grund wurden zuerst mit PSS funktionalisierte Calciumphosphat-Nanopartikel mit MB-Beladung getestet. Die Darstellung der Partikel erfolgte wie in Kapitel 3.4.2.1 beschrieben. Die Ergebnisse der Bakterientest in PBS-Lösung an *Staphylococcus aureus* sind in Abbildung 92 dargestellt.

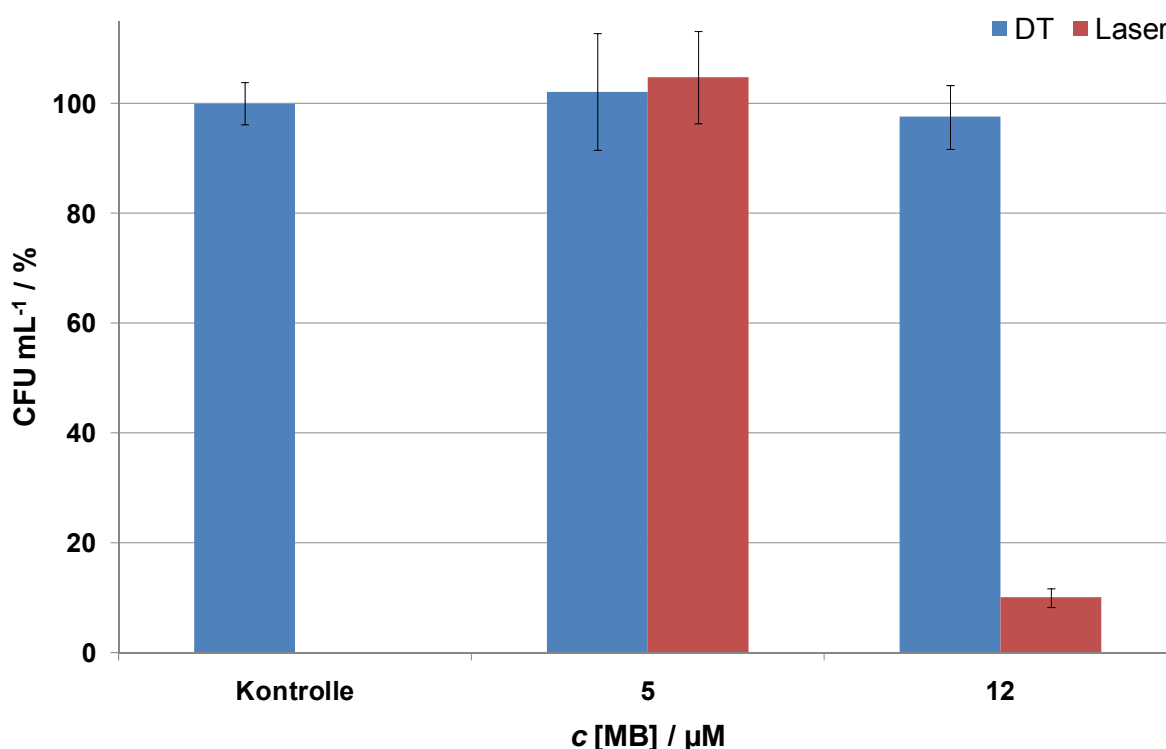


Abbildung 92: Ergebnisse der Bakterientests CaP/PSS/MB-Nanopartikeln mit verschiedenen MB-Beladungen an *Staphylococcus aureus*.

Bei der MB-Konzentration von 5 μM zeigte sich keine Phototoxizität, bei 12 μM ist ein *killing* von 90 % zu beobachten. Um ein System nahe den biologischen Bedingungen *in vivo* zu simulieren, wurde der gleiche Test in PBS-Lösung mit zugefügten 10 % Pferdeserum durchgeführt. Hier zeigten die CaP/PSS/MB-Nanopartikel keine phototoxische Wirkung. Eine mögliche Begründung für diese Beobachtung ist, dass es im Kontakt mit den Proteinen im Pferdeserum zu Agglomeration der Partikel kam.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Agglomerate sind dann zu groß, um durch die Membran der Bakterien zu dringen. Ein ähnliches Bild zeigte sich bei dem Test an *Pseudomonas aeruginosa*. Hier zeigte sich selbst ohne Pferdeserum keine phototoxische Wirkung. Die Partikel waren somit unwirksam gegenüber Gram-negativen Bakterien.

Neben den MB-beladenen Partikeln wurden auch *m*THPP-beladene Calciumphosphat-Nanopartikel an *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* getestet. Abbildung 93 zeigt die zusammengefassten Ergebnisse.

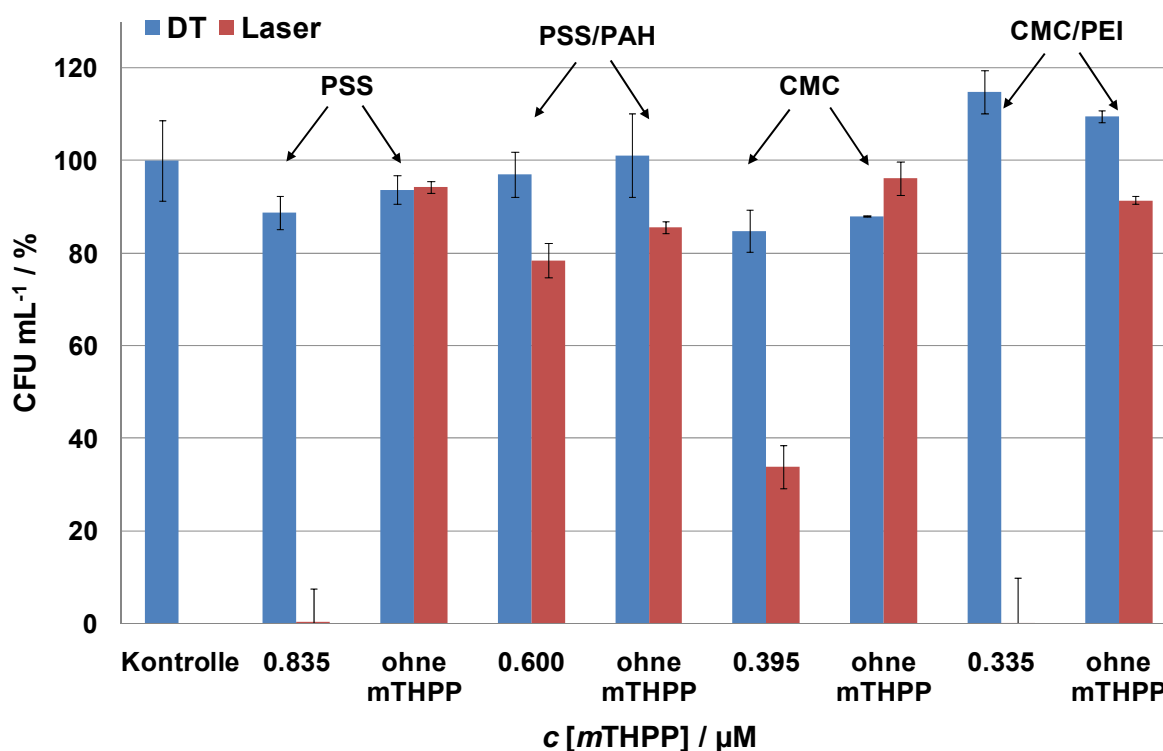


Abbildung 93: Ergebnisse der Bakterientest von CaP/PSS-, CaP/PSS/PAH-, CaP/CMC - und CaP/CMCPEI-Nanopartikel ohne und mit verschiedenen *m*THPP-Beladungen an *Staphylococcus aureus*.

Die CaP/PSS/*m*THPP- mit einer negativen Oberflächenladung zeigten bei einer *m*THPP-Konzentration von 0.835 μM ein fast 100 %iges *killing*. Die entsprechenden unbeladenen Partikel zeigten keine Phototoxizität. Bei einer Umladung der Partikeloberfläche durch die Auftragung einer positiv geladenen PAH-Schicht ging die phototoxische Wirkung bei vergleichbarer Konzentration verloren. CaP/PSS-Nanopartikel ohne *m*THPP-Beladung zeigten die gleiche Wirkung wie die *m*THPP-

3. Ergebnisse und Diskussion

beladenen analogen Partikel. Weder die CaP/PSS/*m*THPP- noch die CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel zeigten Phototoxizität beim Zusatz von 10 % Pferdeserum. Auch gegen *Pseudomonas aeruginosa* zeigten beide Partikelarten keine Wirkung. Die positive Oberflächenladung der CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel trug demnach nicht zu einem verbesserten Eindringen der Partikel in die Membran der Gram-negativen *Pseudomonas aeruginosa* bei. Im Gegensatz dazu bewirkte die Umladung der CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel mit PEI eine deutliche Steigerung der Phototoxizität von ca. 65 % auf ein fast 100 %iges *killing*. Die unbeladenen CaP/CMC-Nanopartikel zeigten keine Phototoxizität. Die unbeladenen CaP/CMC/PEI-Nanopartikel zeigten eine geringe Toxizität. Die Zugabe von Pferdeserum bewirkte wie bei allen anderen Partikelarten einen gänzlichen Verlust der Phototoxizität. Die CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel zeigten auch gegen *Pseudomonas aeruginosa* keine Phototoxizität. Im Gegensatz dazu zeigten die CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel eine deutliche phototoxische Wirkung gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*. Abbildung 94 zeigt die Ergebnisse dieser Tests.

3. Ergebnisse und Diskussion

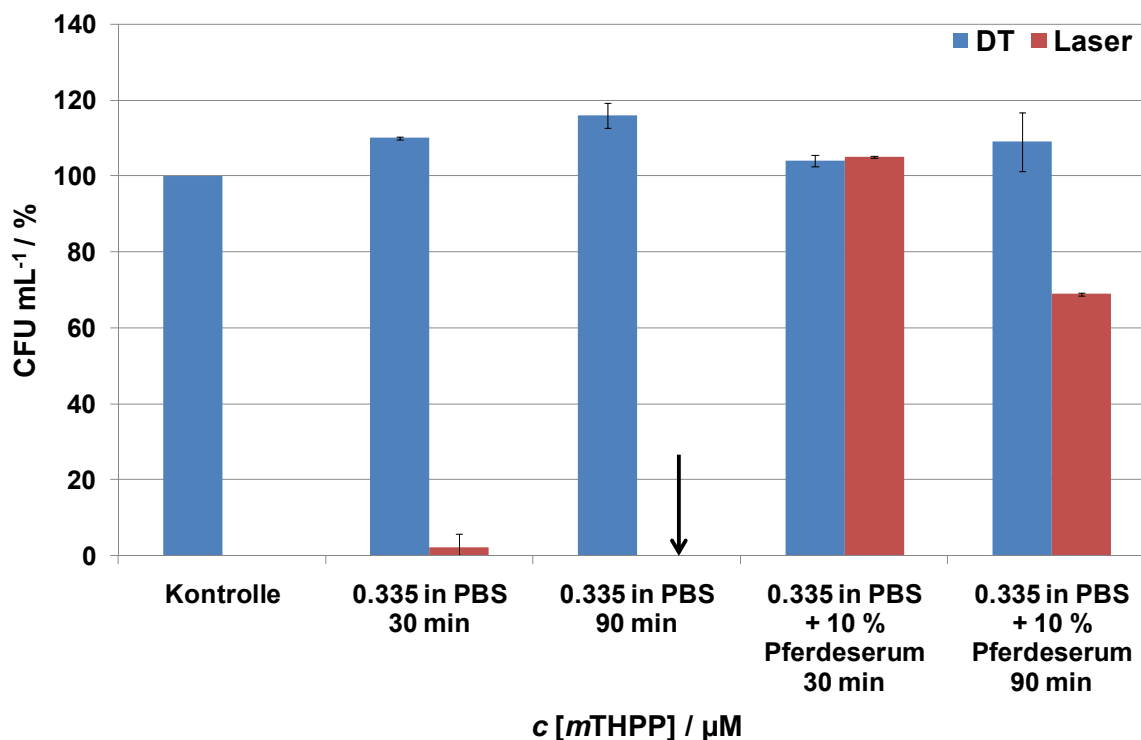


Abbildung 94: Ergebnisse der Bakterientests der CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel an *Pseudomonas aeruginosa* in PBS und in PBS mit 10 % Pferdeserum bei 30- und 90-minütiger Inkubationszeit.

In reinem PBS wurde bei 30-minütiger Inkubationszeit ein *killing* von fast 100 % und bei 90-minütiger Inkubationszeit ein *killing* von 100% erreicht. Im 10 %igen Pferdeserum zeigte sich zunächst bei 30-minütiger Inkubationszeit kein *killing*. Erst nach 90-minütiger Inkubationszeit zeigte sich ein *killing* von ca. 30 %. Die Umladung der Partikeloberfläche durch die Auftragung des positiv geladenen Polyelektrolyten PEI, scheint das Eindringen der Partikel in die Membran der Gram-negativen *Pseudomonas aeruginosa* zu begünstigen. Hamblin et al. zeigten bereits die Wirksamkeit von mit kationischen Polyaminosäuren oder mit Polyelektrolyten modifizierten Photosensibilisatoren.^[203-205] In diesem Fall wurden die Photosensibilisatoren kovalent an die Polykationen gebunden. Diese Konjugate zeigten ebenfalls eine gute Phototoxizität gegenüber *Staphylokokkus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa*. Allerdings wird keine Auskunft zur Dunkeltoxizität dieser Spezies gemacht. Ein direkter Vergleich der Wirksamkeit dieser Systeme und der in dieser Arbeit untersuchten CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel ist nicht möglich, da die Photosensibilisatorklassen, die Inkubations- und Bestrahlungszeiten und die eingesetzten Photosensibilisatorkonzentrationen einander nicht entsprechen. Sehr

3. Ergebnisse und Diskussion

vielversprechend ist allerdings, dass freies mTHPP keine Phototoxizität gegen *Pseudomonas aeruginosa* zeigt. Die Anbringung des mTHPP an die Calciumphosphat-Nanopartikel erhöht somit seine Wirksamkeit.

3.4.4. Zusammenfassung

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, PSS- und CMC-funktionalisierte Calciumphosphat-Nanopartikel mit photodynamisch aktiven Farbstoffen wie Methylenblau und mTHPP zu beladen. Dabei konnte die negative Oberflächenladung der CaP/PSS/mTHPP-Nanopartikel mit einer weiteren PAH-Schicht umgeladen werden. Gleiches gilt für die CaP/CMC/mTHPP-Nanopartikel, die durch die Auftragung einer weiteren PEI-Schicht umgeladen werden konnten. Die mit Photosensibilisator beladenen Partikel wurden bezüglich Partikelgröße und Zetapotential mit Hilfe der DLS charakterisiert. Zusätzlich wurden alle Partikelsysteme im REM abgebildet. Tabelle 16 zeigt die erhaltenen Ergebnisse.

Tabelle 16: Zusammenfassung der Partikelcharakterisierung durch DLS und REM

Partikelart	Durchmesser (DLS) / nm	PDI	Durchmesser (REM) / nm	Zetapotential / mV
CaP/PSS/MB	95	0.153	60-80	-20 ± 10
CaP/PSS/mTHPP	100	0.193	80	-23 ± 8
CaP/PSS/PAH/mTHPP	160	0.243	100	+50 ± 10
CaP/CMC/mTHPP	130	0.130	50-100	-26 ± 4
CaP/CMC/PEI/mTHPP	160	0.172	100	+31 ± 5

Die Farbstoffbeladung der Partikel wurde mit Hilfe der UV/Vis-Spektroskopie über die Erstellung von Kalibrationsgeraden ermittelt. Die Farbstoffbeladung betrug für alle Systeme von 1 bis 10 %, je nach eingesetzter Farbstoffmenge. Des Weiteren wurden die Zusammensetzungen der einschaligen mTHPP-beladenen Calciumphosphat-Partikel durch Elementaranalytik und Thermogravimetrie bestimmt. Die Kristallinität der Partikel wurde durch Röntgenpulverdiffraktometrie bestimmt. Tabelle 17 zeigt die Zusammenfassung der Ergebnisse.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 17: Zusammensetzung und Kristallinität der einschaligen Partikelsysteme.

Partikelsystem	CaP/PSS/ <i>m</i>THPP	CaP/PSS/ MB	CaP/CMC/ <i>m</i>THPP
Ca-Gehalt (AAS) / %	24.52	32.79	22.88
PO ₄ ³⁻ -Gehalt (UV) / %	34.80	38.40	30.80
molares Ca/P-Verhältnis	1.67	2.02	1.76
C / %	11.43	11.15	11.24
H / %	3.15	1.85	3.79
N / %	<0.1	<0.1	<0.1
S / %	3.15	2.48	-
Mineralgehalt / % (TG)	72.1	-	64.0
H ₂ O-Gehalt / % (TG)	11.2	-	16.6
organischer Anteil % (TG)	12.5	-	19.5
CO ₂ -Gehalt / % (TG)	1.4	-	0.9
Kristallinität (XRD)	nanokristallin	amorph	amorph

Die Partikel wurden mit unterschiedlichen Beladungskonzentrationen an verschiedenen Zelllinien und Bakterienkulturen in einer Kooperation mit der Firma *biolitec AG* getestet. Als Blindprobe wurden unbeladene Calciumphosphat-Nanopartikel ebenfalls auf ihre Phototoxizität getestet. Bei den Zelllinien handelte es sich um HT29, eine menschliche Krebs-Zelllinie, HIG-82, eine Synoviozyten-Zelllinie vom Kaninchen und J774A.1, eine Makrophagen-Zelllinie von der Maus. Tabelle 18 zeigt die Zusammenfassung aller Ergebnisse der Zelltests von funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln. Die Wirksamkeit gegen die Krebs-Zelllinie HT29 war moderat für die CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel. Die CaP/PSS/*m*THPP/PAH-Nanopartikel und die CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel zeigten keine Wirkung. Die CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel zeigten als einziges getestetes System eine bereits hohe Dunkeltoxizität, auch ohne *m*THPP-Beladung. Die PEI-Funktionalisierung scheint für die massive Aufnahme der Partikel in die Zellen verantwortlich sein. Dort wirken die Calciumphosphat-Nanopartikel in hoher Konzentration toxisch. Die Reduzierung der Calciumphosphat-Partikelkonzentration führte bezüglich der HT29-Zelllinie zu einer Halbierung der Dunkeltoxizität, sodass ausblickend geringer konzentriertere Partikeldispersionen mit PEI-Funktionalisierung und *m*THPP-Beladung getestet werden sollten. Bezüglich der HIG-82-Zelllinie

3. Ergebnisse und Diskussion

zeigten die CaP/PSS/*m*THPP- und die CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel eine gute Phototoxizität von bis zu 86 %. Diese beiden Systeme mit negativer Oberflächenladung zeigten eine vergleichbare Aktivität. Die Umladung der CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel mit PAH führen zu keiner Verbesserung der Phototoxizität. Für die HIG-82-Zelllinie zeigte sich bei den CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikeln ein ähnliches Bild wie bei der HT29-Zelllinie. Die Partikel waren auch ohne Farbstoffbeladung dunkeltoxisch. Selbst die Reduktion der Partikelkonzentration führte nicht zu einer Verminderung der Dunkeltoxizität. Die Ergebnisse für die J774A.1-Makrophagen-Zelllinie zeigte für alle Partikelsysteme das gleiche Ergebnis: Die Calciumphosphat-Nanopartikel werden von den Makrophagen unabhängig ihrer Funktionalisierungsart massiv aufgenommen und wirken auch ohne Farbstoffbeladung toxisch auf die Zellen. Zusammenfassend ist die Effektivität der in dieser Arbeit vorgestellten Partikelsysteme in Bezug auf die Anwendung auf Zellen als moderat im Vergleich mit dem freien *m*THPP anzusehen. Dies ist für die vorliegenden *in vitro*-Experimente nicht überraschend. Freies *m*THPP kann viel leichter an einer Zellwand adsorbieren, bzw. in eine Zellwand oder Zelle eindringen um dort seine Wirksamkeit zu entfalten. Befindet sich das *m*THPP an einem Partikel, so muss dieser durch Endozytose in die Zelle eindringen. Das Ziel dieser Studie war aber einen geeigneten Träger zu finden, der es ermöglicht, die überwiegend lipophilen Photosensibilisatoren in Wasser handhabbar zu machen und die Selektivität der Photosensibilisatoren beispielsweise durch den EPR-Effekt bei Tumorzellen zu erhöhen. Durch die Anbindung des *m*THPP an die Calciumphosphat-Nanopartikel konnte erreicht werden, dass das in Wasser nur begrenzt lösliche *m*THPP nun in Wasser handhabbar geworden ist. Der wichtigste Punkt ist aber, dass die photodynamische Aktivität des *m*THPP durch die Anbindung an einen Calciumphosphat-Nanopartikel nicht vollständig verloren ging, sodass die Testung dieser Systeme hinsichtlich ihrer Selektivität *in-vivo* durchaus erstrebenswert ist. Rückblickend auf diese Ergebnisse können Photosensibilisatorkonjugate auf der Basis von funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln als Trägersysteme dargestellt und weiter optimiert werden.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 18: Zusammenfassung aller Ergebnisse der Zelltests von funktionalisierten und mit *m*THPP beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln.

System	c (<i>m</i> THPP) / μ M	Zellvitalität		Zellvitalität		Zellvitalität	
		HT29 / %		HIG-82 / %		J774A.1 / %	
		DT	Laser	DT	Laser	DT	Laser
CaP /PSS / <i>m</i> THPP	0	88.4 \pm 8.1	108.1 \pm 10.9	93.6 \pm 5.8	65.4 \pm 8.1	29.6 \pm 5.9	15.3 \pm 37.9
	1.35	90.0 \pm 10.3	93.8 \pm 7.0	70.4 \pm 14.9	53.1 \pm 17.9	10.1 \pm 22.5	12.7 \pm 36.4
	2.15	89.8 \pm 7.2	64.6 \pm 11.9	84.3 \pm 27.8	47.5 \pm 4.2	18.1 \pm 34.5	16.2 \pm 48.6
	2.80	82.5 \pm 6.5	67.7 \pm 2.6	77.8 \pm 9.3	49.6 \pm 9.6	23.7 \pm 57.1	12.7 \pm 31.4
	4.00	89.2 \pm 14.4	62.9 \pm 8.2	86.9 \pm 8.1	40.4 \pm 19.9	23.5 \pm 38.0	9.1 \pm 12.2
	5.55	115.0 \pm 1.0	109.8 \pm 7.8	102.5 \pm 11.6	29.1 \pm 1.3	30.7 \pm 5.0	14.3 \pm 7.7
	8.35	88.5 \pm 0.7	29.8 \pm 10.8	91.6 \pm 17.8	12.8 \pm 20.2	10.1 \pm 19.0	7.9 \pm 12.1
	9.65	123.4 \pm 3.3	109.1 \pm 6.8	98.0 \pm 10.6	28.8 \pm 11.6	6.4 \pm 3.3	14.6 \pm 7.7
	15.15	126.3 \pm 2.0	97.8 \pm 6.7	65.8 \pm 29.9	24.5 \pm 7.9	5.1 \pm 3.2	14.6 \pm 3.7
CaP /PSS / <i>m</i> THPP /PAH	0	101.4 \pm 2.9	102.1 \pm 2.9	87.7 \pm 7.7	92.3 \pm 7.5	42.3 \pm 7.3	46.0 \pm 11.0
	1.75	104.3 \pm 2.2	114.0 \pm 8.8	102.2 \pm 4.2	79.6 \pm 9.6	56.4 \pm 36.	47.4 \pm 7.5
	3.45	99.9 \pm 7.7	107.8 \pm 15.8	101.4 \pm 7.5	58.1 \pm 5.7	57.7 \pm 2.8	46.5 \pm 7.7
	6.00	107.2 \pm 2.9	114.0 \pm 17.6	86.1 \pm 13.4	48.2 \pm 9.2	62.3 \pm 7.9	47.1 \pm 8.2
CaP /CMC / <i>m</i> THPP	0	92.8 \pm 4.4	101.3 \pm 5.9	99.4 \pm 5.1	94.4 \pm 3.5	44.4 \pm 6.5	43.6 \pm 5.9
	0.70	97.8 \pm 0.1	105.9 \pm 2.4	107.2 \pm 9.3	68.3 \pm 16.8	61.0 \pm 6.5	36.1 \pm 8.0
	1.90	98.7 \pm 5.5	103.3 \pm 6.1	89.5 \pm 14.1	56.8 \pm 17.1	58.5 \pm 11.1	32.6 \pm 6.9
	3.95	95.3 \pm 3.4	104.8 \pm 3.1	86.3 \pm 3.4	46.5 \pm 19.7	56.9 \pm 4.5	34.8 \pm 3.5
CaP /CMC / <i>m</i> THPP /PEI	0	39.5 \pm 17.4	23.9 \pm 6.0	28.4 \pm 30.9	14.7 \pm 1.5	43.7 \pm 20.2	14.2 \pm 10.6
	3.35	28.5 \pm 24.0	20.2 \pm 8.8	13.3 \pm 5.9	13.1 \pm 3.8	15.8 \pm 1.5	14.5 \pm 8.8

Des Weiteren wurden alle Partikelarten mit der jeweils höchsten Beladungskonzentration an zwei Bakterienstämmen getestet. Bei den Bakterienkulturen handelte es sich um *Staphylokokkus aureus*, einen Gram-positiven Bakterienstamm und *Pseudomonas aeruginosa*, einen Gram-negativen Stamm. Die Bakterientests wurden zunächst jeweils in PBS durchgeführt. Ebenfalls wurde hier auch eine Blindprobe mit unbeladenen Partikeln durchgeführt. Tabelle 19 fasst die Ergebnisse der Bakterientests zusammen.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 19: Zusammenfassung aller Ergebnisse der Bakterientests in PBS von funktionalisierten und mit *m*THPP- oder MB-beladenen Calciumphosphat-Nanopartikeln.

System	c (Farbstoff) / μM	CFU mL ⁻¹ / %		CFU mL ⁻¹ / %	
		<i>Staphylococcus aureus</i> / %		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / %	
		DT	Laser	DT	Laser
CaP/PSS/MB	5	102.2±10.6	97.6±8.5	keine Tox.	keine Tox.
	12	104.8±8.4	10.1±1.7	keine Tox.	keine Tox.
CaP/PSS/ <i>m</i> THPP	0	93.7±3.1	94.3±1.2	keine Tox.	keine Tox.
	0.835	88.8±3.6	0.4±7.2	keine Tox.	keine Tox.
CaP/PSS/ <i>m</i> THPP /PAH	0	101.2±9.1	85.6±1.3	keine Tox.	keine Tox.
	0.600	97.1±4.9	78.5±3.8	keine Tox.	keine Tox.
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP	0	88.0±0.1	96.2±3.7	keine Tox.	keine Tox.
	0.395	84.9±4.5	33.9±4.7	keine Tox.	keine Tox.
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP/PEI in PBS (30 min)	0	109.6±1.2	91.5±0.8	keine Tox.	keine Tox.
	0.335	114.9±4.7	0.2±9.3	110.0±0.4	2.3±3.5
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP/PEI in PBS (90 min)	0	88.8±1.4	93.3±0.9	keine Tox.	keine Tox.
	0.335	80.7±6.1	0.0	116.4±3.3	0.0
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP/PEI in PBS/Pferdeserum (30 min)	0	keine Tox.	keine Tox.	keine Tox.	keine Tox.
	0.335	keine Tox.	keine Tox.	keine Tox.	keine Tox.
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP/PEI in PBS/ Pferdeserum (90 min)	0	keine Tox.	keine Tox.	keine Tox.	keine Tox.
	0.335	keine Tox.	keine Tox.	109.7±7.8	69.2±0.4

Keine der unbeladenen Partikelsysteme wirkte toxisch auf die Bakterienkulturen. Die Phototoxizitäten der CaP/PSS/*m*THPP- und CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel waren hoch in Bezug auf *Staphylokokkus aureus*. Sie zeigten gegen *Pseudomonas aeruginosa* aber keine Wirkung. Die Umladung der Partikeloberfläche der CaP/PSS/*m*THPP-Nanopartikel mit PAH führte zu keiner Verbesserung der Phototoxizität. Die Umladung der Partikeloberfläche der CaP/CMC/*m*THPP-Nanopartikel mit PEI hingegen führte zu einer starken Phototoxizitätszunahme. Die mit CaP/CMC/*m*THPP/PEI-Nanopartikel waren das einzige System, das auch Phototoxizität gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* zeigte. Um sich einem biologischen System anzunähern, wurden alle Tests auch in 10 %igem Pferdeserum durchgeführt. Dies bewirkte für alle Partikelarten außer den CaP/CMC/*m*THPP/PEI-

3. Ergebnisse und Diskussion

Nanopartikeln zu einem gänzlichen Verlust der Phototoxizität. Die CaP/CMC/mTHPP/PEI-Nanopartikel zeigten noch eine Phototoxizität von ca. 30 %. Zusammenfassend ist die Effektivität der in dieser Arbeit vorgestellten Partikelsysteme in Bezug auf die Anwendung auf Bakterienkulturen als vielversprechend anzusehen. Besonders die CaP/CMC/mTHPP/PEI-Nanopartikel sind sehr wirksam, selbst gegen die schwer zugänglichen Gram-negativen *Pseudomonas aeruginosa*, wobei freies mTHPP alleine keine Wirksamkeit gegen *Pseudomonas aeruginosa* zeigt. Auf der Basis dieser Ergebnisse sollte besonders die Kombination von Photosensibilisatoren mit PEI-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln weiter verfolgt werden.

3.5 Synthese von thermochromen Disilbertetraiodomercurat (Ag_2Hgl_4)-Nanopartikeln

3.5.1 Einführung in die Thematik

Thermochromie ist die Eigenschaft der reversiblen Farbänderung einer Substanz in Abhängigkeit von der Temperatur. Entdeckt wurde die Thermochromie der Verbindungen Ag_2Hgl_4 und Cu_2Hgl_4 1870 von Meusel.^[206] Meusel stellte fest, dass die Verbindung Ag_2Hgl_4 bei ca. 50 °C die Farbe reversibel von gelb nach rot und die Verbindung Cu_2Hgl_4 bei ca. 70 °C die Farbe reversibel von orange nach braun wechselt. Die Niedertemperaturphase wurde jeweils als β -Phase und die Hochtemperaturphase als α -Phase bezeichnet. Erst in den Jahren 1931-1938 wurden die Verbindungen genauer durch Ketelaar charakterisiert. 1931 klärte Ketelaar die Strukturen der Nieder- und Hochtemperaturphase von Ag_2Hgl_4 und Cu_2Hgl_4 mit Hilfe der Röntgenpulverdiffraktometrie auf.^[207,208] Dabei sind Ag_2Hgl_4 und Cu_2Hgl_4 isomorph. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird nur noch auf die Verbindung Ag_2Hgl_4 eingegangen, Abbildung 95 zeigt die Strukturen der α - und β -Phase von Ag_2Hgl_4 .

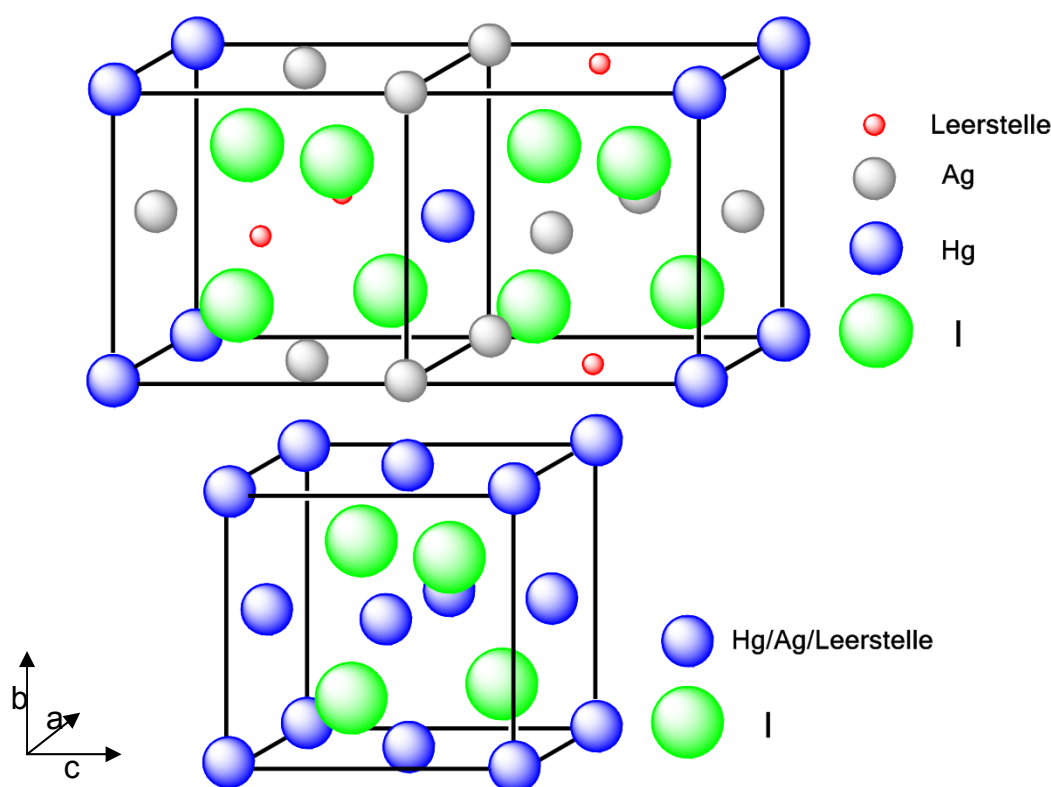


Abbildung 95: Darstellung der Elementarzellen von Ag_2Hgl_4 ; oben β -Phase, unten α -Phase.

3. Ergebnisse und Diskussion

Die Niedertemperaturphase (β -Phase) kristallisiert in einer tetragonalen, pseudokubischen Struktur, wobei die I-Anionen eine kubisch dichteste Kugelpackung bilden. Die Hg-Kationen spannen ein tetragonal innenzentriertes Gitter auf und sind jeweils von vier I-Anionen tetraedrisch umgeben. Die Ag-Kationen sind ebenfalls jeweils von vier I-Anionen tetraedrisch umgeben. Die I-Anionen sind wiederum tetraedrisch von zwei Ag-, einem Hg-Kation und einer Leerstelle umgeben. Auf die besondere Bedeutung der Leerstellen wird im späteren Verlauf dieses Kapitels eingegangen. Die Leerstellen befinden sich auf der Hälfte der a- und b-Flächen.

Die Hochtemperaturphase (α -Phase) zeigt ebenfalls eine kubisch dichteste Kugelpackung der I-Anionen, wobei hier die Leerstellen, Hg- und Ag-Kationen statistisch die 4-zähligen Punktlagen besetzen. Beide Strukturen kristallisieren im Zinkblendetyp. Diese strukturellen Daten wurden von Hahn und Browall mit Hilfe der Einkristalldiffraktometrie bestätigt und präzisiert.^[209,210] Neben der Strukturbestimmung wurde auch die Leitfähigkeit beider Phasen eingehend untersucht.^[211,212] Dabei konnte festgestellt werden, dass die α -Phase eine deutlich höhere Leitfähigkeit als die β -Phase aufweist. Durch den Übergang von der β - in die α -Phase können sich die Ag- und Hg-Kationen frei über die Leerstellen im Gitter bewegen. Es kommt so zu einer Ionenleitung. Hull et al. haben die Ag_2HgI_4 -Struktur bei höheren Temperaturen untersucht und zwei weitere Phasen gefunden: Die δ -Phase bei 150 °C mit hexagonaler Struktur und die ϵ -Phase bei etwa 170 °C mit kubischer Struktur.^[213,214] Beide Phasen zeigen zeichnen sich durch eine noch höhere Leitfähigkeit aus. Eine weitere Farbänderung beim Übergang zu der δ - oder ϵ -Phase tritt nicht ein. Durch das gesteigerte Interesse an der Leitfähigkeit von Ag_2HgI_4 , rückte die Eigenschaft der Thermochromie in den Hintergrund. Erst 1987 konnte eine Begründung für die Thermochromie von Ag_2HgI_4 von Fernandez und Jaw mit Hilfe von EHMO-Rechnungen gegeben werden.^[215,216] Die Farbigkeit der Verbindung an sich kommt durch einen *Charge-transfer*-Übergang zwischen dem voll besetzten 5p-Orbital (in erster Linie HOMO-Charakter) der I-Anionen und dem leeren 6s-Orbital (in erster Linie LUMO-Charakter) der Hg-Kationen zustande. Die Farbänderung von gelb zu orange mit steigender Temperatur hängt mit der Vergrößerung des Hg-I-Abstandes durch die Veränderung der Kristallstruktur zusammen. Durch die statistische Verteilung der Kationen und Leerstellen auf den 4-zähligen Punktlagen im I-Gitter der α -Phase können nun bis zu vier Hg-Kationen ein Iodid-Anion koordinieren. Die Abstände zwischen Hg und I werden so größer. Die

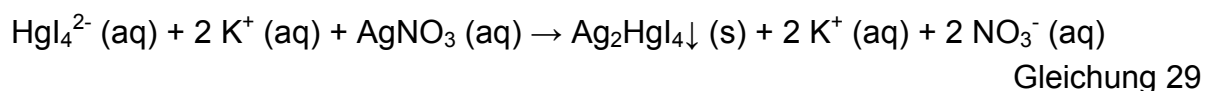
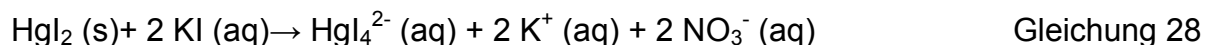
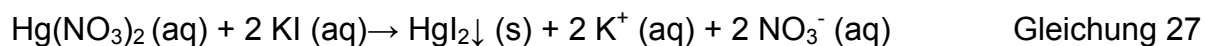
Übergangsenergie des *Charge-transfer*-Übergangs ist umgekehrt proportional zum Quadrat des Hg-I-Abstandes. Somit bedingt die Beteiligung von mehr als einem Hg-Kation an dem *Charge-transfer*-Übergang eine Abnahme der Übergangsenergie. Aus der Verringerung der Übergangsenergie resultiert eine Verschiebung der Absorption vom energiereichen blauen in den energieärmeren grünen Bereich des sichtbaren Spektrums. Die Farbe des Ag_2HgI_4 wechselt als Folge dessen von gelb zu rot. Im Jahre 2000 wurden von Potty et al. erstmals Ag_2HgI_4 -Nanopartikel über die Festkörperreaktion von AgI mit HgI_2 hergestellt.^[217] Die Größe der Partikel wurde anhand von XRD-Messungen und der Anwendung der Scherrer-Gleichung auf 16-20 nm abgeschätzt.^[194] Die Untersuchungen dieser Partikel beschränkt sich auf die Ermittlung der dielektrischen Eigenschaften von Kompositen aus Ag_2HgI_4 - und Al_2O_3 -Nanopartikeln.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Ag_2HgI_4 -Nanopartikel hergestellt und erstmals eingehend charakterisiert. Dabei sollte der Einfluss der Partikelgröße bzw. der Einfluss von Funktionalisierungen auf die thermochrome Temperatur und die Phasenübergangsenthalpie untersucht werden.^[218]

3.5.2 Experimenteller Aufbau

In der Literatur ist eine Vielzahl von Darstellungsmethoden für Ag_2HgI_4 bekannt. Dabei gibt es zwei grundsätzliche Unterschiede. Zum Einen gibt es die Möglichkeit, Ag_2HgI_4 über eine Festkörperreaktion von AgI und HgI_2 darzustellen.^[209,219-221] Zum Anderen ist die Darstellung von Ag_2HgI_4 über eine Fällungsreaktion von K_2HgI_4 mit AgNO_3 möglich.^[222-228] Im Rahmen dieser Arbeit sollte die Darstellung von Ag_2HgI_4 -Nanopartikeln mit Hilfe von Polymerfunktionalisierung über eine Fällungsreaktion realisiert werden. Dabei wurde 0.5 g $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (1.5 mmol) in 100 mL Reinstwasser gelöst und auf 90 °C erhitzt. 10 mL einer 10 %igen KI-Lösung (6 mmol) wurde unter Rühren zu der Lösung getropft. Es bildete sich zunächst HgI_2 , das als roter Feststoff ausfiel (Gleichung 27). Es reagierte anschließend bei weiterer Zugabe von KI-Lösung zu dem Komplexanion HgI_4^{2-} (Gleichung 28). Es entstand eine gelblich klare Lösung, die im weiteren Verlauf als Stammlösung diente. Das entstandene HgI_4^{2-} konnte nun mit einer wässrigen Lösung aus AgNO_3 zu Ag_2HgI_4 umgesetzt (Gleichung 29) werden. Die Konzentration an AgNO_3 entsprach der doppelten Konzentration der HgI_4^{2-} Lösung.

3. Ergebnisse und Diskussion



Während der Umsetzung mit AgNO_3 wurde ein Polymer zur Stabilisierung der entstehenden Partikel zugegeben oder als Vorlage für die Fällung gewählt. Die verwendeten Polymere waren das Natriumsalz der Polyacrylsäure (PAA), Natrium-Polystyrolsulfonat (PSS), Polyvinylalkohol (PVA) und Polyvinylpyrrolidon (PVP). Dabei sind PSS und PAA Polyelektrolyte, d.h. jede Monomereinheit trägt eine Ladung. PAA und PSS sind negativ geladen. PVP und PVA sind ungeladene Polymere. Abbildung 96 zeigt die Monomereinheiten der verwendeten Polymere.

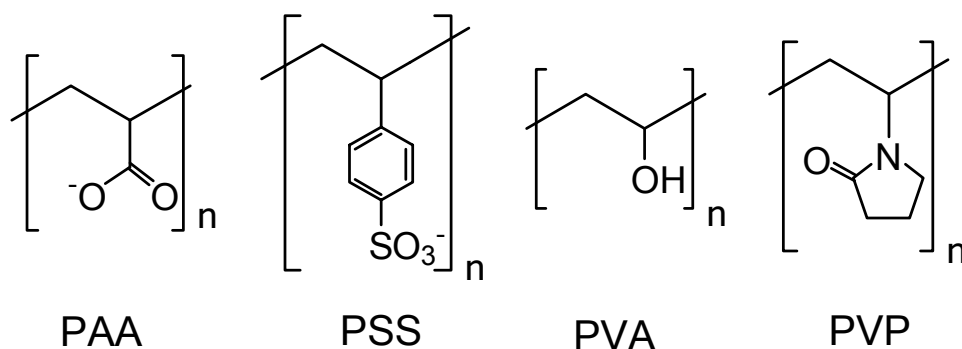


Abbildung 96: Graphische Darstellung der Monomereinheiten der verwendeten Polymere.

Für jede Darstellung der Nanopartikel wurden 5 mL der HgI_4^{2-} -Stammlösung (A) und 5 mL der AgNO_3 -Lösung (B) verwendet, die über eine Peristaltikpumpe bei einer Pumpengeschwindigkeit von 10 Umdrehungen min^{-1} ($\pm 5 \text{ mL min}^{-1}$) zusammengegeben wurden. Tabelle 20 fasst alle übrigen Versuchsparameter zusammen.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 20: Zusammenfassung der Versuchsparameter zur Darstellung von polymerfunktionalisierten Ag₂HgI₄-Nanopartikeln.

Polymer	c / g L ⁻¹	V / mL	Reihenfolge der Zugabe
PAA	16	10	PAA mit A mischen und B hinzu tropfen
PSS	8	20	PSS vorlegen, A und B gleichzeitig hinzu tropfen
PVA	2	20	PVA vorlegen, A und B gleichzeitig hinzu tropfen
PVP	16	20	PVP vorlegen, A und B gleichzeitig hinzu tropfen

Die dargestellten Nanopartikel wurden hinsichtlich ihrer Größe und Zetapotential mit Dynamischer Lichtstreuung und hinsichtlich ihrer optischen Eigenschaften in Dispersion mit Hilfe der UV/Vis-Spektroskopie untersucht. Für die Aufnahme der temperaturlösten UV/Vis-Spektren wurden die Partikeldispersionen durch ein Wasserbad auf ca. 60 °C erhitzt und anschließend in eine UV-Küvette von 1 cm Durchmesser gefüllt. Alle Partikeldispersionen wurden zuvor 1:4 mit Wasser verdünnt. Die Temperatur wurde während der Abkühlung vor jeder Messung ermittelt. Für ein UV/Vis-Spektrum unter Raumtemperatur wurde die Probe in einem Eisbad gekühlt. Die Partikel wurden durch zweimaliges Zentrifugieren (jeweils 60 min bei 16000 g) und Redispergieren (Ultraschallbad) in Reinstwasser von Gegenionen und überschüssigem Polymer gereinigt und anschließend an der Luft getrocknet. Der Feststoff wurde mit Hilfe von Elementaranalytik (AAS, CHN-Analyse), Rasterelektronenmikroskopie (REM), Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD) und Dynamischer Differenz-Kalorimetrie (DSC) charakterisiert.

3.5.3 Ergebnisse und Diskussion

3.5.3.1 Charakterisierung der mit PAA funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel

Die Größenverteilung der PAA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel wurde mit Hilfe der DLS bestimmt. Abbildung 97 zeigt die Größenverteilung der Partikel.

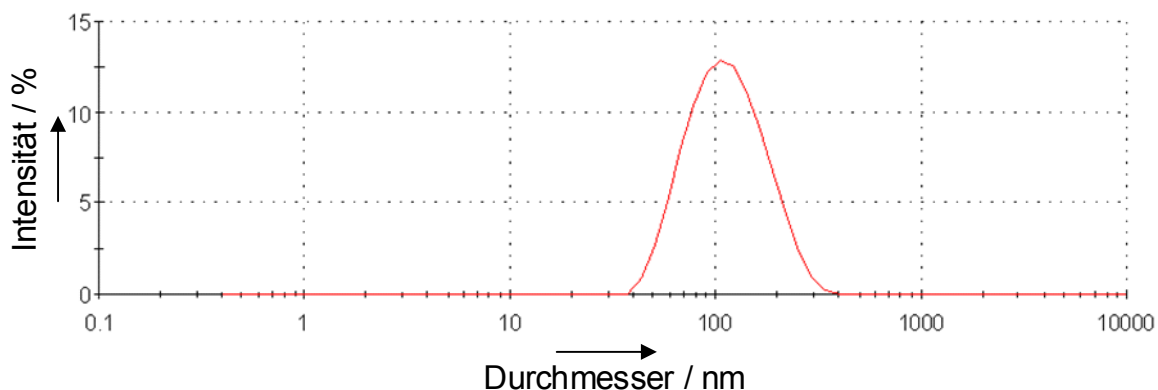


Abbildung 97: Größenverteilung der PAA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

Der *z-Average* betrug 100 nm mit einem PDI von 0.156. Das Zetapotential betrug -55 ± 10 mV. Obwohl das Zetapotential über -30 mV lag, waren die Partikel nur wenige Tage stabil. Abbildung 98 zeigt eine REM-Aufnahme der PAA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel. Es sind 80-100 nm große Partikel zu erkennen.

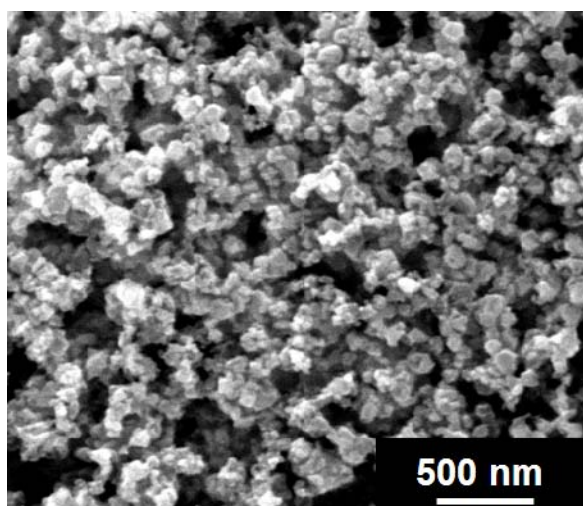


Abbildung 98: REM-Aufnahme der PAA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

3. Ergebnisse und Diskussion

Der Farbumschlag von gelb für die Niedertemperaturphase nach orange für die Hochtemperaturphase in Dispersion und im Feststoff wurde photographisch festgehalten. Abbildung 99 zeigt diese Aufnahmen.

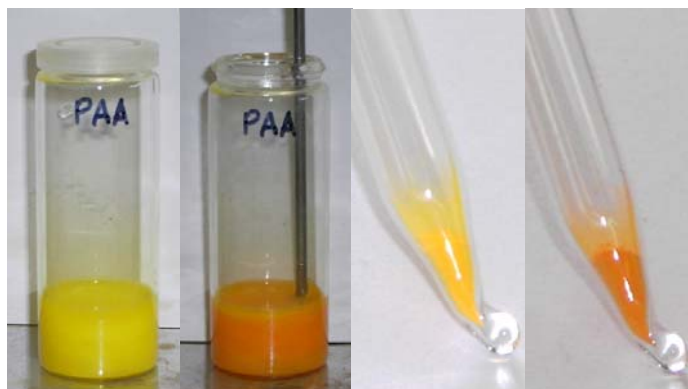


Abbildung 99: Photographien des Farbumschlages von PAA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikeln; links in Dispersion, rechts im Feststoff; gelb = $T < 10\text{ }^\circ\text{C}$, orange = $T > 50\text{ }^\circ\text{C}$.

Bei der Beobachtung der Aufwärmung der Dispersion fiel auf, dass der Farbumschlag nicht punktuell, sondern als Farbumschlagsbereich eintrat. Bei der Abkühlung auf Raumtemperatur fand der Rückumschlag zu gelb noch langsamer und zunächst unvollständig statt. Erst bei der Abkühlung durch ein Eisbad konnte die hellgelbe Farbe wieder erreicht werden. Diese visuellen Beobachtungen in der Dispersion konnten durch UV/Vis-Spektroskopie bestätigt werden. Die thermochrome Temperatur im Feststoff wurde über DSC-Messungen bestimmt. Abbildung 100a zeigt die temperaturabhängigen UV/Vis-Spektren und Abbildung 100b zeigt die DSC-Messung der PAA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

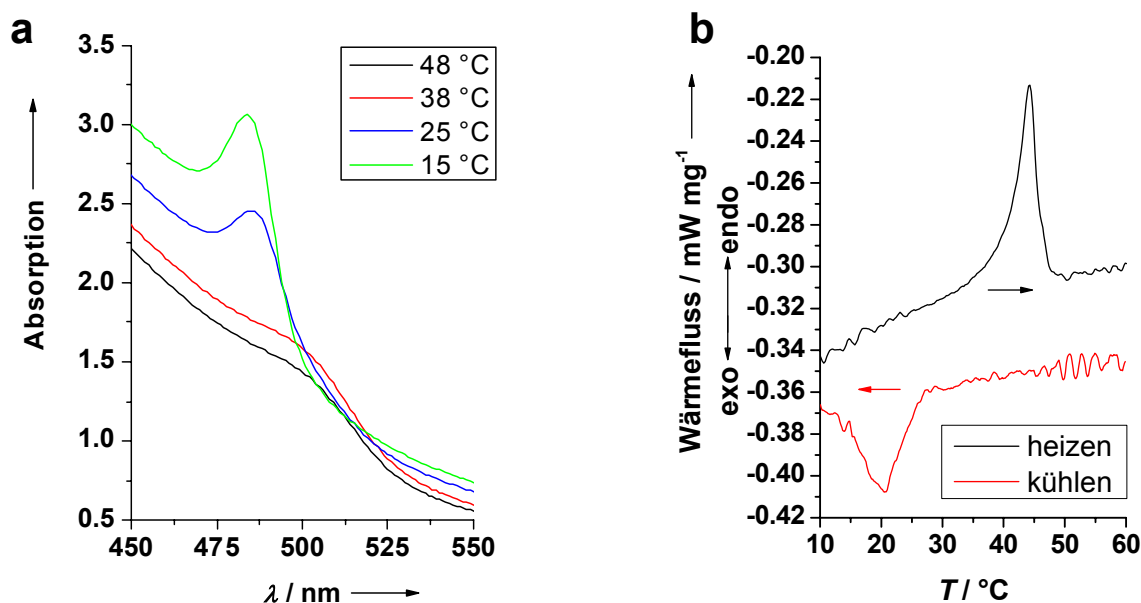


Abbildung 100: a Temperaturabhängige UV/Vis-Spektren; b DSC-Messung der PAA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

Bei der Aufnahme der UV/Vis-Spektren zeigte sich eine deutliche Verschiebung in der Absorption zwischen 25 °C und 38 °C von 484 nm auf 490-510 nm. Ein Absorptionsmaximum der Hochtemperaturphase zu bestimmen, gestaltete sich als schwierig, weshalb hier nur ein Absorptionsbereich angegeben werden kann. Es wird zusätzlich deutlich, dass bereits zwischen 15 °C und 25 °C eine leichte Verschiebung des Maximums eintrat. Der Farbumschlag erstreckte sich demnach über den gesamten untersuchten Temperaturbereich von 15-50 °C.

Der Phasenübergang und damit der Farbumschlagsbereich im Feststoff konnte über DSC-Messungen bestimmt werden. 8.5 mg der Probe wurde hierfür in einem Aluminium-Tiegel einem Temperaturprogramm unterworfen. Beim Aufheizen der Probe mit 5 K min^{-1} war ein endothermes Ereignis bei einer *onset*-Temperatur von ca. 40 °C zu beobachten. Dies zeigt die Phasenumwandlung der β -Phase in die α -Phase der Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel. Es ist schwierig, eine genaue *onset*-Temperatur zu bestimmen, da die Basislinie während der gesamten Messung leicht anstieg. Dies wurde wahrscheinlich durch das PAA verursacht. Eine durchgeführte DSC-Messung des reinen PAA zeigte einen kontinuierlichen Anstieg der DSC-Kurve ab 20 °C. Beim Abkühlen der Ag_2Hgl_4 -Partikel zeigte sich eine Verzögerung des Phasenübergangs mit einer *onset*-Temperatur von ca. 25 °C. Die Enthalpie des Phasenübergangs von der β - zur α -Phase betrug 3.8 kJ mol^{-1} . Die Enthalpie des Phasenübergangs von der

3. Ergebnisse und Diskussion

α - zur β -Phase betrug -3.8 kJ mol^{-1} . Der Silbergehalt der PAA-funktionalisierten Ag_2HgI_4 -Nanopartikel wurde über AAS und der Polymergehalt über CHN-Analyse bestimmt. Dabei ergab sich ein Silbergehalt von 22.5 % bei einem theoretischen Wert von 23.3 % für reines Ag_2HgI_4 ohne Polymerfunktionalisierung. Der Polymergehalt der Probe betrug 0.5 %. Der Quecksilbergehalt sowie der Iodgehalt konnten nicht bestimmt werden. Die Kristallinität der Probe wurde mit Hilfe der Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD) an einem STOE-Transmissions-Diffraktometer STADI P 2003-10 mit $\text{Cu K}\alpha$ -Strahlung untersucht. Abbildung 101 zeigt das Pulverdiffraktogramm der PAA-funktionalisierten Ag_2HgI_4 -Nanopartikel.

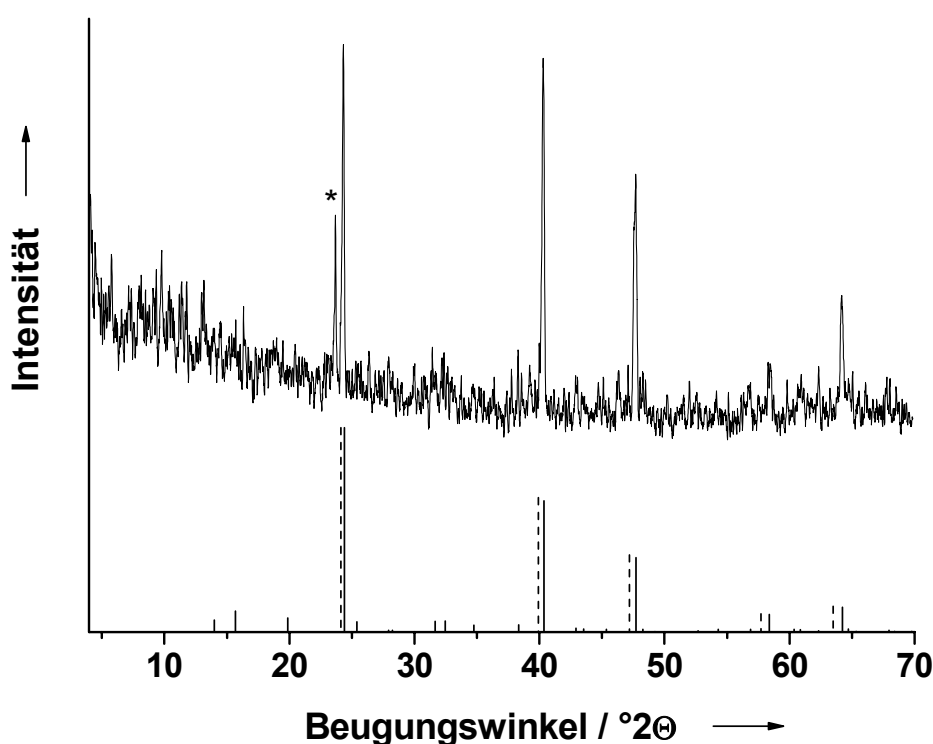


Abbildung 101: XRD der PAA-funktionalisierten Ag_2HgI_4 -Nanopartikel; die zusätzlich dargestellten Reflexlagen zeigen die berechnete α -Form bei 66 °C (gestrichelt, ICDD 77-0168) und die berechnete β -Form bei 25 °C (massiv, ICDD 74-0168). Der mit * gekennzeichnete Reflex zeigt eine AgI-Verunreinigung.

Es sind sechs intensivere Reflexe bei 23.7° , 24.3° , 40.3° , 47.7° , 58.5° , $64.1^\circ 2\theta$ zu erkennen. Diese entsprechen der fünf intensivsten Reflexe der β -Form (berechnet bei 24.4° ; 40.4° ; 47.7° ; 58.4° ; $64.2^\circ 2\theta$). Ein weiterer Reflex bei $23.7^\circ 2\theta$ ist einer Verunreinigung mit AgI zuzuschreiben.

3.5.3.2 Charakterisierung der mit PSS funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel

Die Größenverteilung der PSS-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel wurde über DLS bestimmt. Abbildung 102 zeigt die Größenverteilung der Partikel.

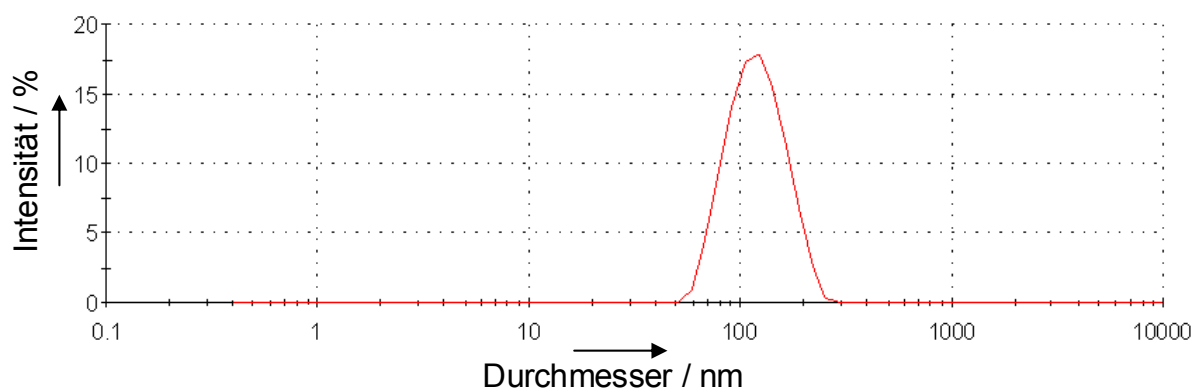


Abbildung 102: Größenverteilung der PSS-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

Der *z-Average* betrug 110 nm mit einem PDI von 0.088. Das Zetapotential betrug -60 ± 14 mV. Obwohl das Zetapotential über -30 mV lag, waren auch diese Partikel nur wenige Tage stabil. Abbildung 103 zeigt eine REM-Aufnahme der PAA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel. Es sind 80-100 nm große Partikel zu erkennen.

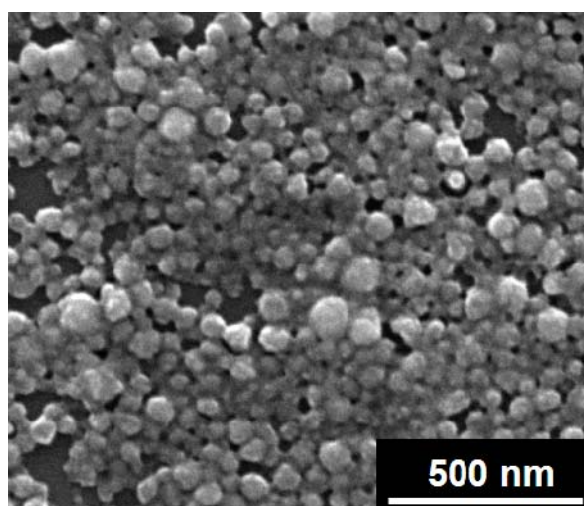


Abbildung 103: REM-Aufnahme der PSS-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

Auch für die PSS-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel war der Farbumschlag von gelb für die Niedertemperaturphase nach orange für die Hochtemperaturphase in Dispersion und im Feststoff sichtbar (Abbildung 104).

3. Ergebnisse und Diskussion



Abbildung 104: Photographie des Farbumschlages von PSS-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikeln; links in Dispersion, rechts im Feststoff; gelb = $T < 10^\circ\text{C}$, orange = $T > 50^\circ\text{C}$.

Auch bei diesen Partikeln war eine Verzögerung des Farbumschlages beim Abkühlungsprozess zu beobachten. Erst bei Abkühlung durch ein Eisbad konnte die hellgelbe Farbe wieder erreicht werden. Diese visuellen Beobachtungen in der Dispersion konnten durch UV/Vis-Spektroskopie bestätigt werden. Die thermochrome Temperatur im Feststoff wurde über DSC-Messungen bestimmt werden. Abbildung 105a zeigt die temperaturabhängigen UV/Vis-Spektren und Abbildung 105b zeigt die DSC-Messung der PSS-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

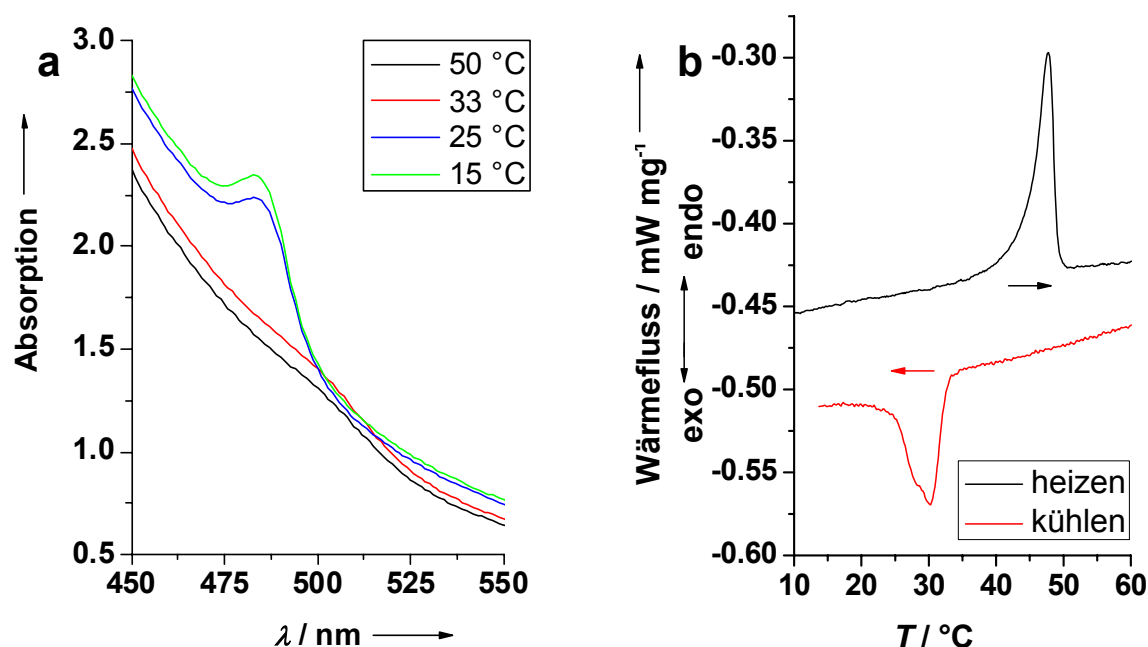


Abbildung 105: a Temperaturabhängige UV/Vis-Spektren, b DSC-Messung der PSS-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

3. Ergebnisse und Diskussion

Es zeigte sich eine deutliche Verschiebung in der Absorption zwischen 25 °C und 33 °C von 483 nm auf 490-510 nm. Auch bei diesen Partikeln tritt eine geringe Verschiebung des Maximums zwischen 15 °C und 25 °C ein. Der Phasenübergang und damit der Farbumschlagsbereich im Feststoff konnte über DSC-Messungen bestimmt werden. 5.3 mg der Probe wurde hierfür in einem Aluminium-Tiegel einem Temperaturprogramm unterworfen. Beim Aufheizen der Probe mit 5 K min⁻¹ war ein endothermes Ereignis bei einer *onset*-Temperatur von ca. 45 °C zu beobachten. Dies zeigte die Phasenumwandlung der β -Phase in die α -Phase der Ag₂Hgl₄-Nanopartikel.

Beim Abkühlen der Probe zeigte sich eine Verzögerung des Phasenübergangs mit einer *onset*-Temperatur von ca. 33 °C. Es deuteten sich zwei Peaks an. Die Enthalpie des Phasenübergangs von der β - zur α -Phase betrug 5.3 kJ mol⁻¹. Die Enthalpie des Phasenübergangs von der α - zur β -Phase betrug -5.0 kJ mol⁻¹.

Der Silbergehalt der PSS-funktionalisierten Ag₂Hgl₄-Nanopartikel wurde über AAS und der Polymergehalt über CHN-Analyse bestimmt. Dabei ergab sich ein Silbergehalt von 23.4 % bei einem theoretischen Wert von 23.3 % für reines Ag₂Hgl₄ ohne Polymerfunktionalisierung. Der Polymergehalt der Probe betrug 1.0 %. Die Kristallinität der Probe wurde mit Hilfe der Röntgenpulverdiffraktometrie untersucht. Abbildung 106 zeigt das Pulverdiffraktogramm der PSS-funktionalisierten Ag₂Hgl₄-Nanopartikel.

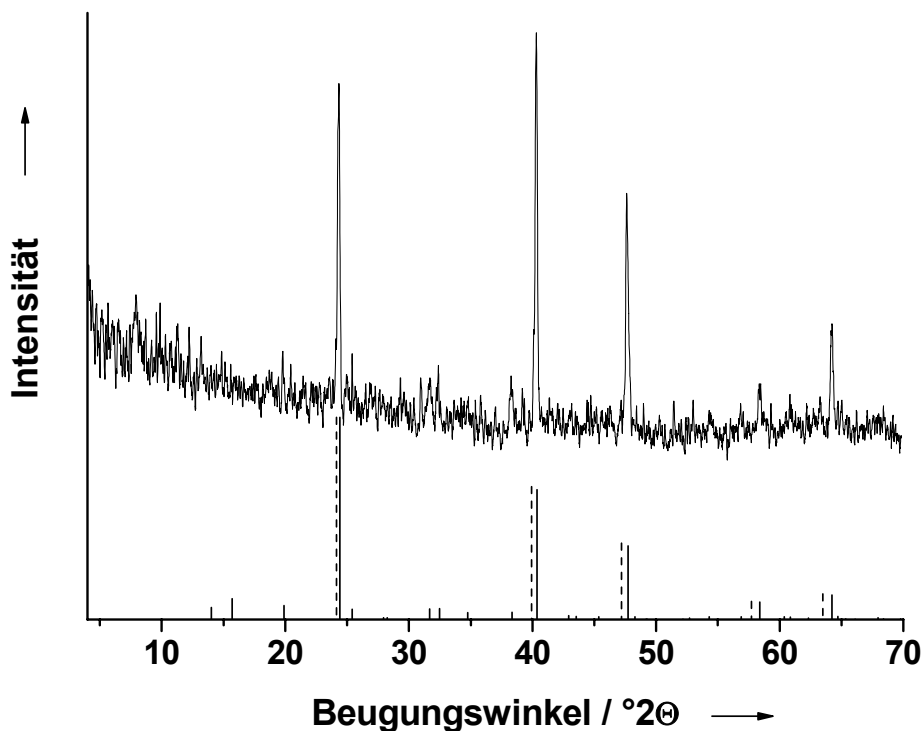


Abbildung 106: XRD der PSS-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel; die zusätzlich dargestellten Reflexlagen zeigen die berechnete α -Form bei 66 °C (gestrichelt, ICDD 77-0168) und die berechnete β -Form bei 25 °C (massiv, ICDD 74-0168).

Es sind fünf intensivere Reflexe bei 24.4, 40.3, 47.6, 58.3, 64.2° 2θ zu erkennen. Diese entsprechen den fünf intensivsten Reflexe der β -Form (berechnet bei 24.4; 40.4; 47.7; 58.4; 64.2° 2θ). Im Gegensatz zu den PAA-funktionalisierten Partikeln sind hier keine Reflexe zu erkennen, die auf eine AgI-Verunreinigung schließen lassen.

3.5.3.3 Charakterisierung der mit PVA funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel

Die Größenverteilung der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel wurde mit Hilfe der DLS bestimmt. Abbildung 107 zeigt die Größenverteilung der Partikel.

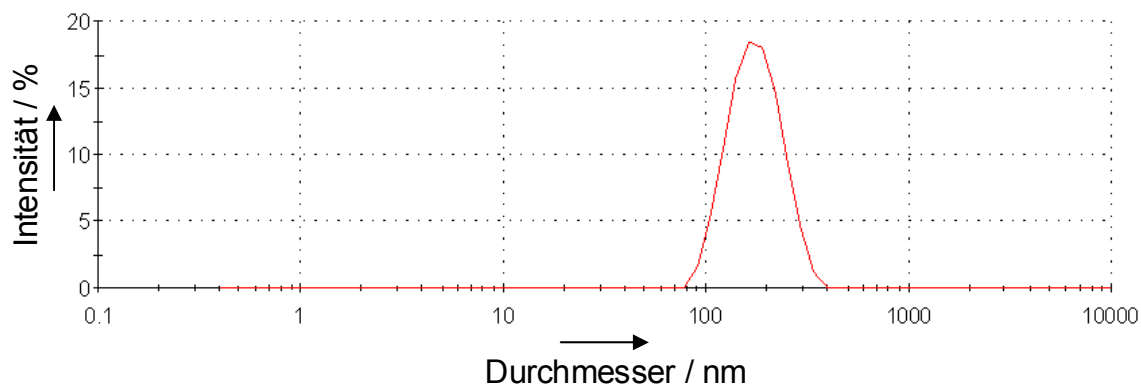


Abbildung 107: Größenverteilung der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

Der *z-Average* betrug 160 nm mit einem PDI von 0.099. Das Zetapotential lag bei 0 mV, da das eingesetzte PVA ungeladen ist. Da die Partikel trotzdem einige Tage unagglomeriert vorlagen, konnte von einer sterischen Stabilisierung ausgegangen werden. Abbildung 108 zeigt eine REM-Aufnahme der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel. Es sind 100-140 nm große Partikel zu erkennen.

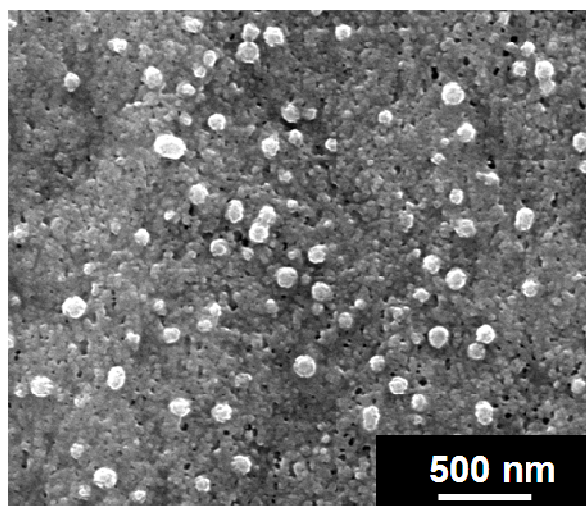


Abbildung 108: REM-Aufnahme der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

3. Ergebnisse und Diskussion

Wie für die PAA- und PSS-funktionalisierten Partikel war auch für die PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel der Farbumschlag von gelb nach orange in Dispersion und im Feststoff sichtbar (Abbildung 109).



Abbildung 109: Photographien des Farbumschlages von PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikeln; links in Dispersion, rechts im Feststoff; gelb = $T < 10\text{ }^{\circ}\text{C}$, orange = $T > 50\text{ }^{\circ}\text{C}$

Der Farbumschlag beim Abkühlungsprozess zeigt sich ebenso verzögert wie bei den zuvor besprochenen Partikelsystemen. Erst bei Abkühlung durch ein Eisbad konnte die hellgelbe Farbe wieder erreicht werden. Die UV/Vis-Spektroskopie bestätigte diese Beobachtungen. Zur Bestimmung der thermochrome Temperatur im Feststoff wurden erneut DSC-Messungen durchgeführt. Abbildung 110a zeigt die temperaturabhängigen UV/Vis-Spektren und Abbildung 110b zeigt die DSC-Messung der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

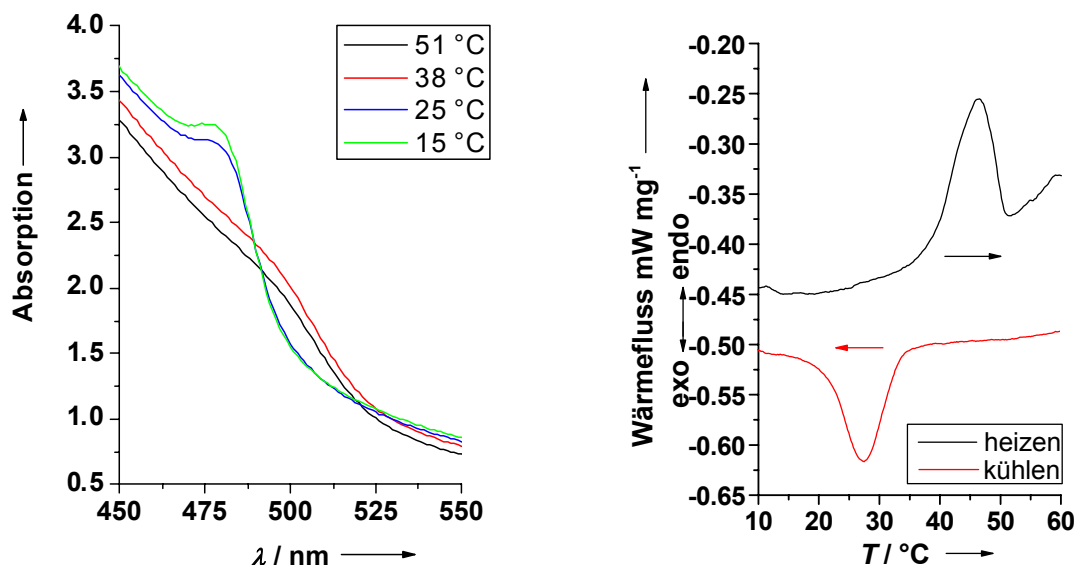


Abbildung 110: a Temperaturabhängige UV/Vis-Spektren, b DSC-Messung der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

Wie auch bei den PAA- und PSS- funktionalisierten Partikeln zeigte sich eine deutliche Verschiebung in der Absorption zwischen 25 °C und 33 °C von 477 nm auf 480-500 nm. Auch bei diesen Partikeln trat eine geringe Verschiebung des Maximums zwischen 15 °C und 25 °C ein. Für die DSC-Messungen wurden 6.9 mg der Probe in einem Aluminium-Tiegel einem Temperaturprogramm unterworfen. Beim Aufheizen der Probe mit 5 K min^{-1} war die Phasenumwandlung der β -Phase in die α -Phase der Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel ab ca. 38 °C zu beobachten. Beim Abkühlen der Probe zeigte sich eine Verzögerung des Phasenübergangs mit einer *onset*-Temperatur von ca. 34 °C. Die Enthalpie des Phasenübergangs von der β - zur α -Phase betrug 5.3 kJ mol^{-1} . Die Enthalpie des Phasenübergangs von der α - zur β -Phase betrug -4.8 kJ mol^{-1} . Der Silbergehalt (AAS) der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel betrug 21.6 % bei einem theoretischen Wert von 23.3 % für reines Ag_2Hgl_4 ohne Polymerfunktionalisierung. Der Polymergehalt der Probe betrug laut CHN-Analyse 7.9 %. Hier lag der Polymergehalt deutlich über dem der PAA- und PSS- funktionalisierten Partikel. Abbildung 111 zeigt ein Röntgenpulverdiffraktogramm der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

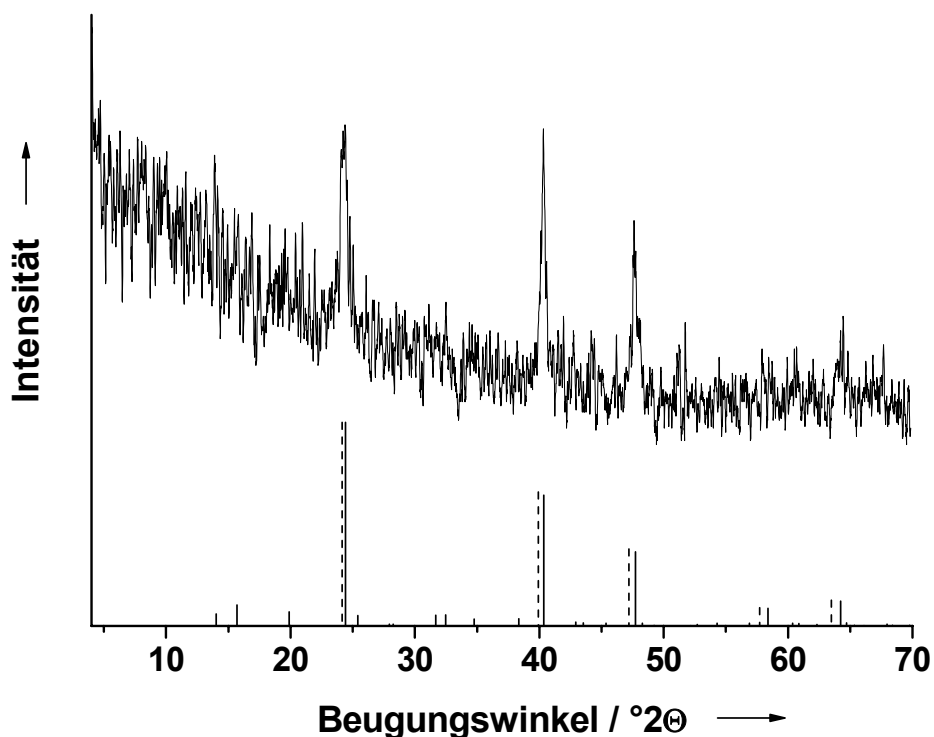


Abbildung 111: XRD der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel; die zusätzlich dargestellten Reflexlagen zeigen die berechnete α -Form bei 66 °C (gestrichelt, ICDD 77-0168) und die berechnete β -Form bei 25 °C (massiv, ICDD 74-0168).

Es sind nur vier intensivere Reflexe bei 24.4, 40.3, 47.6, 64.2°2 θ zu erkennen. Diese entsprechen den vier intensivsten Reflexe der β -Form (berechnet bei 24.4; 40.4; 47.7; 64.2°2 θ). Reflexe, die auf eine AgI-Verunreinigung hindeuten würden, sind nicht zu erkennen.

3.5.3.4 Charakterisierung der mit PVP funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel

Die Größenverteilung der PVP-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel wurde mit Hilfe der DLS bestimmt. Abbildung 112 zeigt die Größenverteilung der Partikel.

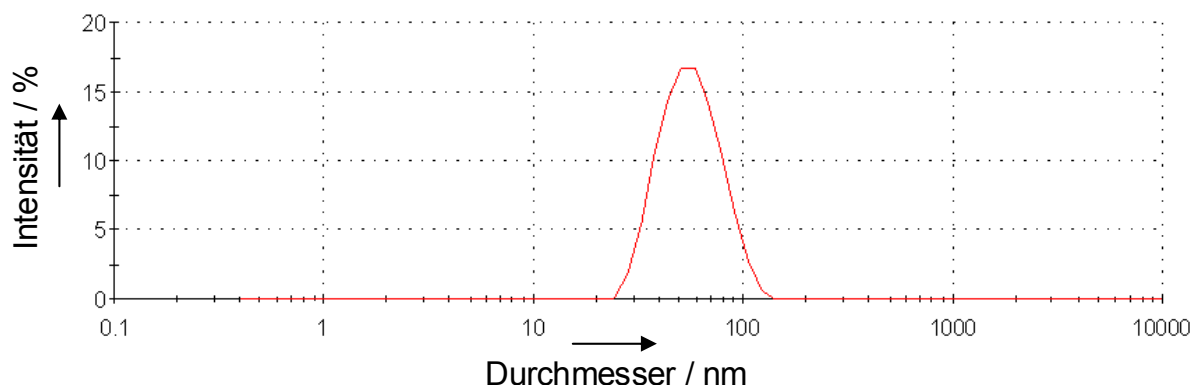


Abbildung 112: Größenverteilung der PVP-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

Der *z-Average* betrug 50 nm mit einem PDI von 0.147. Das Zetapotential lag bei 0 mV, da das eingesetzte PVP ungeladen ist. Da die Partikel trotzdem für einige Tage unagglomeriert vorlagen, konnte von einer sterischen Stabilisierung ausgegangen werden. Abbildung 113 zeigt eine REM-Aufnahme der PVP-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel. Es sind 30-50 nm große Partikel zu erkennen.

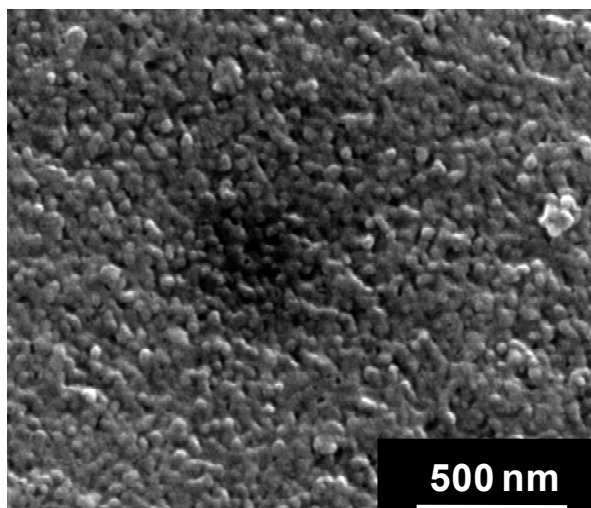


Abbildung 113: REM-Aufnahme der PVP-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

Auch für die PVP-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel ist der Farbumschlag von gelb für die Tieftemperaturphase nach orange für die Hochtemperaturphase in Dispersion und im Feststoff sichtbar (Abbildung 114).

3. Ergebnisse und Diskussion

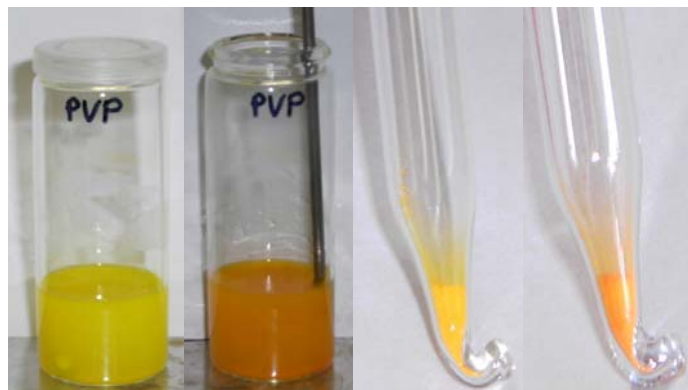


Abbildung 114: Photographien des Farbumschlages von PVP-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikeln; links in Dispersion, rechts im Feststoff; gelb = $T < 10^\circ\text{C}$, orange = $T > 50^\circ\text{C}$.

Bei diesen Partikeln war ebenfalls eine Verzögerung des Farbumschlages beim Abkühlungsprozess zu beobachten. Erst bei Abkühlung durch ein Eisbad konnte die hellgelbe Farbe wieder erreicht werden. UV/Vis-Spektroskopie bestätigte diese Beobachtungen. Die thermochrome Temperatur im Feststoff konnte über DSC-Messungen bestimmt werden. Abbildung 115a zeigt die temperaturabhängigen UV/Vis-Spektren und Abbildung 115b zeigt die DSC-Messung der PVA-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

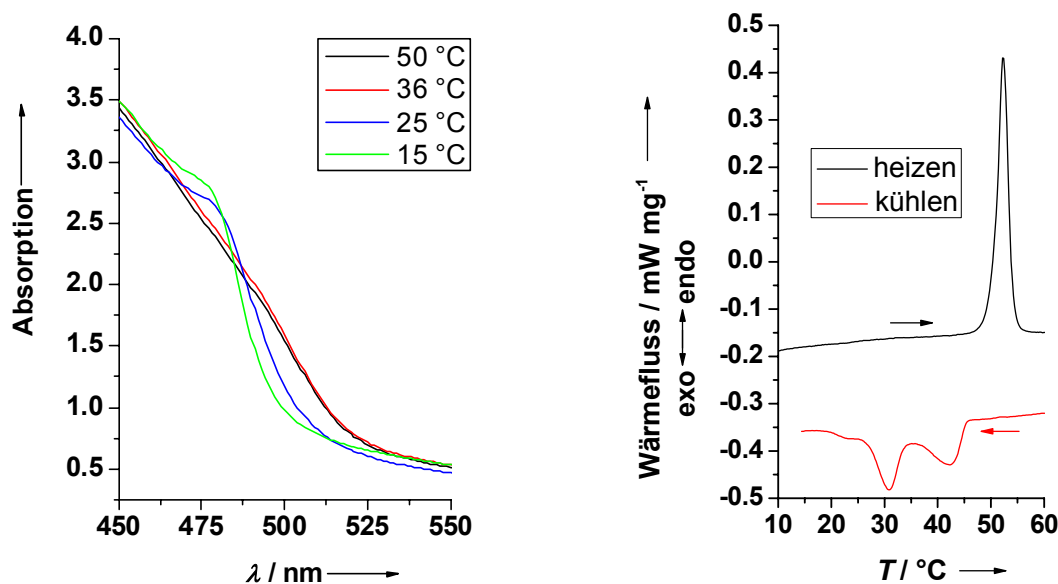


Abbildung 115: a Temperaturabhängige UV/Vis-Spektren, b DSC-Messung der PVP-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel.

Ähnlich den PAA-, PSS- und PVA-funktionalisierten Partikeln zeigte sich eine deutliche Verschiebung in der Absorption zwischen 25 °C und 36 °C von 476 nm nach 480-500 nm. Bei diesen Partikeln tritt im Vergleich mit den PAA-, PSS- und PVA-funktionalisierten Partikeln eine etwas deutlichere Verschiebung des Maximums zwischen 15 °C und 25 °C ein. Für die DSC-Messungen wurden 7.3 mg der Probe in einem Aluminium-Tiegel einem Temperaturprogramm unterworfen. Beim Aufheizen der Probe mit 5 K min⁻¹ war die Phasenumwandlung der β -Phase in die α -Phase der Ag₂Hgl₄-Nanopartikel ab ca. 50 °C zu beobachten. Beim Abkühlen der Probe zeigte sich eine Verzögerung des Phasenübergangs mit einer *onset*-Temperatur von ca. 46 °C. Es zeigten sich außerdem zwei Peaks, sodass sich der gesamte Phasenumwandlungsbereich über einen Temperaturbereich von 17 °C erstreckt. Das Auftreten von zwei Peaks ist auf eine AgI-Verunreinigung zurückzuführen, dies wird in Kapitel 3.5.4 genauer diskutiert. Die Enthalpie des Phasenübergangs von der β - zur α -Phase betrug 8.5 kJ mol⁻¹. Die Enthalpie des Phasenübergangs von der α - zur β -Phase betrug -8.3 kJ mol⁻¹. Der Silbergehalt der PVP-funktionalisierten Ag₂Hgl₄-Nanopartikel wurde über AAS und der Polymergehalt über CHN-Analyse bestimmt. Dabei ergab sich ein Silbergehalt von 21.2 % bei einem theoretischen Wert von 23.3 % für reines Ag₂Hgl₄ ohne Polymerfunktionalisierung. Der Polymergehalt der Probe betrug 8.6 %. Hier lag der Polymergehalt ähnlich dem Gehalt bei der PVA-funktionalisierten Partikel deutlich über dem der PAA- und PSS-funktionalisierten Partikel. Die Kristallinität der Probe wurde durch die Anfertigung eines XRDs untersucht. Für diese Partikel konnte am HASYLAB in Hamburg (Beamline B2 des DORIS III Speicherrings, Synchrotronstrahlung $\lambda = 0.5981$ Å) temperatúraufgelöste XRDs aufgenommen werden. Hierbei wurde das XRD für die β -Form bei 25 °C und das für die α -Form bei 65 °C aufgenommen. Abbildung 116 zeigt die Pulverdiffraktogramme der PVP-funktionalisierten Ag₂Hgl₄-Nanopartikel.

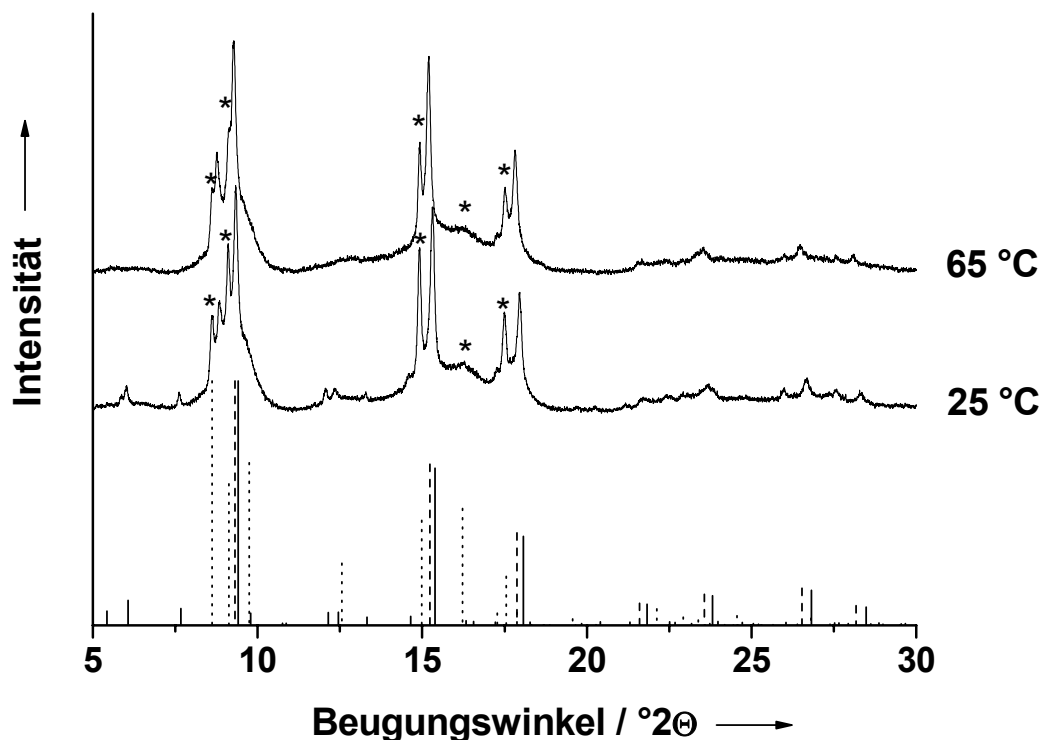


Abbildung 116: Temperatur aufgelöste Röntgenpulverdiffraktogramme der PVP-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel; die zusätzlich dargestellten Reflexlagen zeigen die berechnete α -Form bei 66 °C (gestrichelt, ICDD 77-0168), die berechnete β -Form bei 25 °C (massiv, ICDD 74-0168) und das berechnete XRD von AgI (gepunktet, ICDD 83-2045). Die mit * gekennzeichnete Reflexe zeigt eine AgI-Verunreinigung.

Durch das durch Synchrotronstrahlung verbesserte Signal zu Rausch-Verhältnis konnten am HASYLAB in Hamburg deutlich besser aufgelöste Diffraktogramme als am STOE-Transmissions-Diffraktometer erhalten werden. Auch die schwächeren Reflexe der β -Form heben sich nun vom Untergrund ab. Tabelle 21 fasst die Ergebnisse zusammen.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 21: Zusammenfassung der gemessenen Reflexlagen der Pulverdiffraktogramme von PVP-funktionalisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel im Vergleich mit den berechneten Reflexlagen der Pulverdiffraktogramme von α -, β - Ag_2Hgl_4 und AgI.

Reflexlagen / $^\circ 2\theta$ 25 °C Ag_2Hgl_4 - Nanopartikel	Reflexlagen / $^\circ 2\theta$ 65 °C Ag_2Hgl_4 - Nanopartikel	Reflexlagen / $^\circ 2\theta$ α -Form tabelliert	Reflexlagen / $^\circ 2\theta$ β -Form tabelliert	Reflexlagen / $^\circ 2\theta$ AgI tabelliert
-	6.02	-	6.07	-
-	7.62	-	7.68	-
8.61	8.62	-	-	8.61
9.12	9.12	-	-	9.13
9.28	9.34	9.31	9.41	-
-	12.06	-	12.15	-
-	12.33	-	12.45	-
-	13.29	-	13.32	-
-	14.58	-	14.65	-
14.93	14.93	-	-	14.98
15.20	15.31	15.23	15.39	-
16.31	16.31	-	-	16.22
17.52	17.51	-	-	17.54
17.81	17.96	17.88	18.07	-
21.55	21.73	21.60	21.83	-
23.54	23.71	23.56	23.82	-
26.00	25.99	-	-	26.04
26.46	26.68	26.54	26.82	-
27.59	27.54	-	-	27.65
28.08	28.31	28.18	28.48	-

Die sieben Reflexe der α - Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel unterscheiden sich von den entsprechenden Reflexen der β - Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel nur geringfügig. Die β - Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel zeigen zusätzlich noch sechs weitere Reflexe, die bei den α - Ag_2Hgl_4 -Nanopartikeln nicht auftreten. Dies kann durch die niedrigere Symmetrie der β -Form gegenüber der α -Form erklärt werden. Bei der kubischen Symmetrie kommt es verglichen mit der tetragonalen Symmetrie zu mehr systematischen Reflexauslöschungen. Im Vergleich mit den berechneten Reflexen beider

makroskopischen Phasen der α - und β -Form zeigt sich eine geringfügige Verschiebung der Reflexe der α - und β - Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel zu kleineren 2θ -Winkeln. Der Durchschnitt der Verschiebung liegt bei $0.05^\circ 2\theta$. Zusätzlich gibt es noch weitere sieben erkennbare Reflexe in beiden Phasen, die weder der α - noch der β -Form der Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel zugeordnet werden können. Ein Vergleich dieser Reflexe mit den berechneten Reflexlagen von AgI zeigt, dass eine AgI-Verunreinigung vorliegt (Tabelle 21).

3.5.3.5 Charakterisierung der unfunktionalisierten, makroskopischen Ag_2Hgl_4 -Phase

Zum Vergleich mit den Ag_2Hgl_4 -Nanopartikeln wurde die unfunktionalisierte, makroskopische Ag_2Hgl_4 -Phase dargestellt. Diese konnte nicht über DLS untersucht werden, da ohne Polymerfunktionalisierung keine stabile Dispersion erreicht werden konnte. Abbildung 117 zeigt eine REM-Aufnahme der unfunktionalisierten Probe.

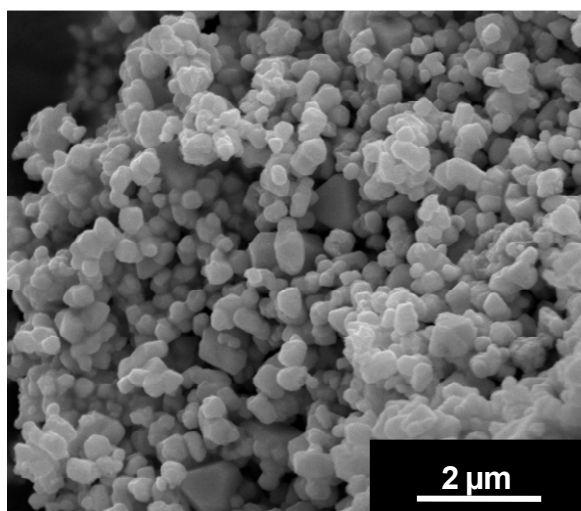


Abbildung 117: REM-Aufnahme von unfunktionalisiertem Ag_2Hgl_4

Die Probe besteht hauptsächlich aus Partikeln in einem Größenbereich von ca. 500 nm und auch einigen größeren Kristallen von bis zu 1 μm . Der Farbumschlag der Probe konnte nur im festen Zustand erhalten werden, da keine stabile Dispersion vorlag. Demnach konnten auch keine UV/Vis-Spektren angefertigt werden. Abbildung 118 zeigt die entsprechenden Photographien.

3. Ergebnisse und Diskussion

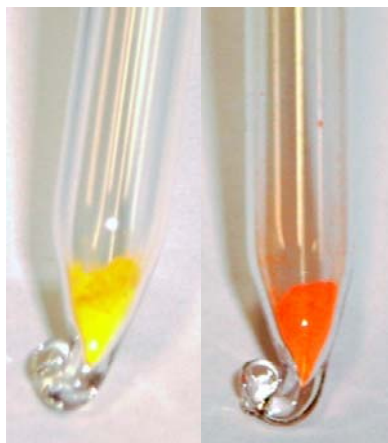


Abbildung 118: Photographien des Farbumschlages der unfunktionalisierten, makroskopische Ag_2Hgl_4 -Phase; gelb = $T < 10^\circ\text{C}$, orange = $T > 50^\circ\text{C}$.

Über DSC-Messungen konnte die Phasenumwandlungstemperatur bestimmt werden (Abbildung 119)

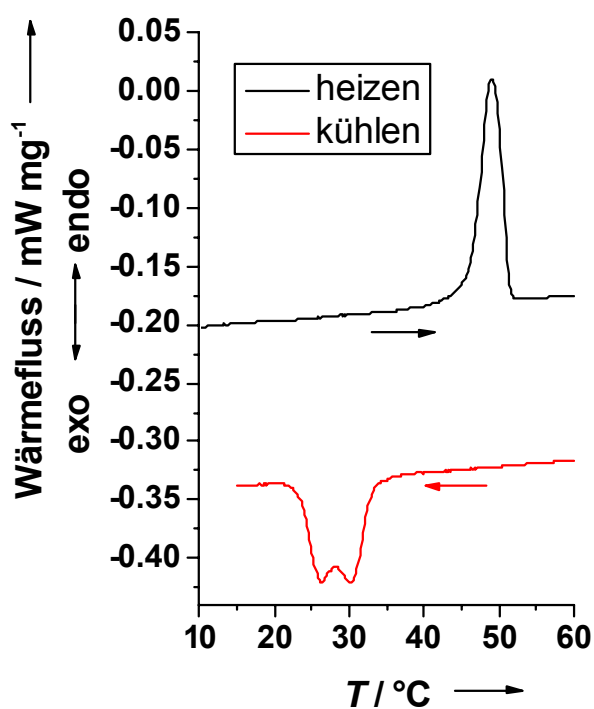


Abbildung 119: DSC-Messung der unfunktionalisierten, makroskopischen Ag_2Hgl_4 -Phase.

Für die DSC-Messungen wurden 6.5 mg der Probe in einem Aluminium-Tiegel einem geregelten Temperaturprogramm unterworfen. Beim Aufheizen der Probe war die Phasenumwandlung der β -Phase in die α -Phase des Ag_2Hgl_4 ab ca. 46°C zu

3. Ergebnisse und Diskussion

beobachten. Beim Abkühlen der Probe zeigte sich eine Verzögerung des Phasenübergangs mit einer *onset*-Temperatur von ca. 33 °C. Es zeigten sich außerdem zwei Peaks, sodass sich der gesamte Phasenumwandlungsbereich über einen Temperaturbereich von 14 K erstreckte. Die Enthalpie des Phasenübergangs von der β - zur α -Phase betrug 8.29 kJ mol⁻¹. Die Enthalpie des Phasenübergangs von der α - zur β -Phase betrug -8.12 kJ mol⁻¹.

Abbildung 120 zeigt ein XRD der unfunktionalisierten makroskopischen Ag₂Hgl₄-Phase.

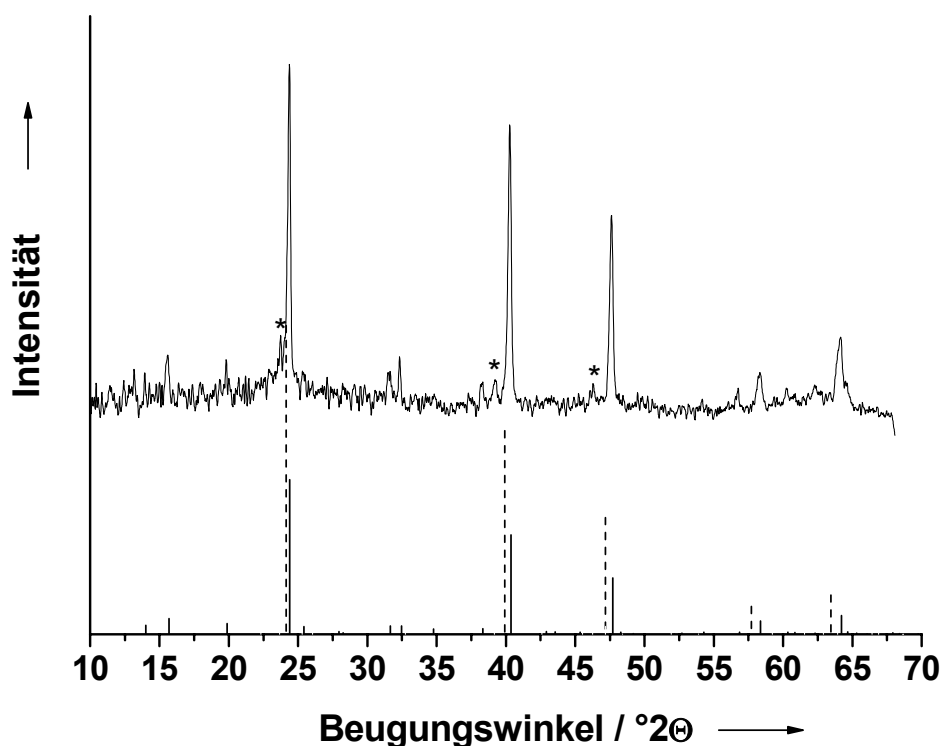


Abbildung 120: XRD der unfunktionalisierten Ag₂Hgl₄-Phase; die zusätzlich dargestellten Reflexlagen zeigen die berechnete α -Form (gestrichelt, ICDD 77-0168) und die berechnete β -Form (massiv, ICDD 74-0168). Mit * sind die Reflexe angegeben, die eine AgI-Verunreinigung anzeigen.

Im Gegensatz zu den Polymer-funktionalisierten Ag₂Hgl₄-Nanopartikeln sind im Falle der unfunktionalisierten Phase fast alle berechneten Reflexe zu finden. Zusätzlich sind drei weitere Reflexe mit * gekennzeichnet, die einer AgI-Verunreinigung zuzuschreiben sind.

3.5.4 Vergleich der verschieden funktionalisierten Ag₂Hgl₄-Nanopartikel und Zusammenfassung

Die Zusammenfassung aller Ergebnisse zeigt Tabelle 22. Die Partikel zeigten über DLS bestimmte Durchmesser zwischen 50 und 160 nm. Diese Durchmesser wurden durch anschließend angefertigte REM-Aufnahmen bestätigt. Die PAA- und PSS-funktionalisierten Partikel hatten ein hohes Zetapotential von -55 bis -60 mV, während die PVP- und PVA-funktionalisierten Partikel erwartungsgemäß ein Zetapotential von 0 mV zeigten. Der Polymeranteil der Partikel war bei der Stabilisierung mit ungeladenen Polymeren deutlich höher als bei der Stabilisierung mit negativ geladenen Polymeren. Ein möglicher Grund hierfür ist die elektrostatische Abstoßung zwischen den Partikeln und den negativ geladenen Polymeren. Dies führt zu der Annahme, dass die Partikeloberfläche durch Iodid-Anionen dominiert wird. Die über UV/Vis-Spektroskopie gesammelten Daten zeigten für alle Ag₂Hgl₄-Nanopartikel eine Verschiebung des Absorptionsmaximums zu höheren Wellenlängen mit steigender Temperatur, wobei zusätzlich eine deutliche Peakverbreiterung eintrat. Der Farbwechsel aller Partikelsysteme trat somit nicht punktuell ein, sondern fand über einen Temperaturbereich statt. Dabei war bei der Abkühlung der Partikel auf Raumtemperatur ein verzögerter und auch zunächst unvollständiger Übergang von orange zu gelb erkennbar. Bei der Abkühlung mit Eiswasser trat eine weitere Aufhellung der gelben Farbe ein. Die Absorptionsmaxima der einzelnen Partikelsysteme waren unterschiedlich. Dieser Effekt scheint nicht von der Partikelgröße abhängig zu sein, da das Absorptionsmaximum der kleinsten PVP-funktionalisierten Partikel dem der größten PVA-funktionalisierten Partikel am ähnlichsten ist (Tabelle 22). Es ist denkbar, dass die verschiedenen Polymere Einfluss auf den Farbwechsel haben, da sie bedingt durch die kontinuierliche Fällung vielleicht auch in die Partikel eingebaut sein könnten und so auf eine noch unklare Weise den *Charge-transfer*-Übergang beeinflussen. Dabei könnte die Ladung oder die Menge des absorbierten Polymers eine Rolle spielen.

3. Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 22: Zusammenfassung der Untersuchungen an Ag₂Hgl₄-Nanopartikeln; *bulk* bezieht sich auf die unfunktionalisierte Form.

Polymer		PAA	PSS	PVA	PVP	<i>bulk</i>
Ag-Gehalt (AAS) / %		22.5	23.4	21.6	21.2	-
Polymergehalt (C,H,N-Analyse) / % berechnet über den C- Gehalt der Probe		0.5	1.0	7.9	8.6	-
C / %		0.2	0.5	4.3	5.6	-
H / %		-	-	0.6	0.6	-
N / %		-	-	-	1.6	-
Durchmesser / nm (DLS)		100	100	160	50	-
Zetapotential / mV		-55±10	-60±14	± 0	± 0	-
Durchmesser / nm (REM)		80-100	80-100	100-140	30-50	500- 1000
Absorptions- maximum / nm (UV/Vis)	15 °C	484	483	477	476	-
	50 °C	490-510	490-510	480-500	480-500	-
onset-Temperatur / °C (DSC)	heizen	41.2	45.4	38.7	50.3	46.2
	kühlen	27.7	32.9	35.0	46.0	33.4
Phasenübergangs- enthalpie / kJ mol ⁻¹ (DSC)	heizen	3.82	5.31	5.33	8.50	8.29
	kühlen	-3.84	-5.08	-4.79	-8.28	-8.12

Diese optischen in Dispersion untersuchten Eigenschaften konnten über DSC-Messungen am Feststoff nachvollzogen werden. Die PVP-funktionalisierten Partikel mit dem kleinsten Durchmesser von 30-50 nm zeigten die höchste Phasenübergangstemperatur mit 50.3 °C für die Heiz- und 46.0 °C für die Kühlphase. Die PVA-funktionalisierten Partikel mit dem größten Durchmesser von 100-140 nm zeigten die niedrigste Phasenumwandlungstemperatur mit 38.7 °C für die Heiz- und 35.0 °C für die Kühlphase. Die PAA- und PSS-funktionalisierten Partikel haben ähnliche Durchmesser von ca. 100 nm und lagen auch mit ihren ähnlichen Phasenumwandlungstemperaturen zwischen denen der PVP- und PVA-funktionalisierten Partikel. Dabei waren sie der unfunktionalisierten Ag₂Hgl₄-Phase

mit einer Phasenumwandlungstemperatur von 46.2 °C am ähnlichsten. Dies war der Fall, obwohl die Partikelgrößen der unfunktionalisierten Phase weit über denen der PAA- bzw. PSS-funktionalisierten Partikel lagen. Eine mögliche Begründung hierfür ist, dass sowohl die PAA- als auch die PSS-funktionalisierten Partikel im Gegensatz zu den PVA- und PVP-funktionalisierten Partikel nur einen sehr kleinen Polymeranteil von 0.5-1.0 % aufwiesen. Es ist denkbar, dass der Anteil an adsorbiertem Polymer Einfluss auf die Phasenumwandlungstemperatur nimmt. Die Schwierigkeit bei der Interpretation der DSC-Ergebnisse bestand darin, dass die Peaks sehr breit sind. Für die Aufheizphase lag die Peakbreite bei 7-12 K. Für die Abkühlphase trat zunächst eine deutliche Verzögerung der *onset*-Temperatur von 4-16 K für die Phasenumwandlung. Diese Verzögerung wurde durch die im Vorfeld in Dispersion beobachteten Farbänderungen bereits erwartet. Zusätzlich zu der Verschiebung war im Falle der PSS-funktionalisierten Partikel ein angedeuteter, im Falle der PVP-funktionalisierten Partikel ein deutlicher zweiter Peak zu erkennen. Die erhaltenen Peakbreiten aller Partikel lagen bei 8-25 K. Ähnlich verhielt es sich mit der unfunktionalisierten Phase. Auch hier trat eine Verzögerung der Phasenumwandlungstemperatur von 14 K ein. Außerdem waren bei der unfunktionalisierten Phase wie bei den PVP-funktionalisierten Partikeln zwei Peaks zu erkennen.

Es stellte sich nun die Frage, warum bei der Abkühlphase zwei Peaks entstehen. Entsprechende Diskussionen bezüglich der makroskopischen Phase sind in zahlreichen Veröffentlichungen thematisiert worden. Besonders die Gruppen Friesel, Lunden und Baranowski haben sich in den 80er Jahren eingehend mit diesem Thema beschäftigt.^[227,229-235] Sie sind zu dem Ergebnis gekommen, dass die Art der Präparation einen erheblichen Einfluss auf das spätere Temperaturverhalten hat. Besonders eine Verunreinigung mit AgI, die nach den Aussagen der Autoren mit bis zu 1.5 mol% je nach Präparationstechnik vertreten ist, kann eine Peakverbreiterung bis hin zu einer Peakaufspaltung auslösen. Die Aufspaltung wird ausgelöst über die durch die AgI-Verunreinigung bedingte Ausbildung einer metastabilen Phase. Die Angaben dieser Autoren beziehen sich allerdings auf die Heizphase. Die Peakaufspaltungen bei den Kühlphasen werden in keiner Veröffentlichung diskutiert. Bereits 1951 wurde auch von Bachman et al. die Probenverunreinigung durch AgI als Grund für die Temperaturdifferenz zwischen der Phasenumwandlung bei der Heiz- und Kühlphase angeführt.^[236] Jaffray et al. beschreiben einen Temperaturunterschied

3. Ergebnisse und Diskussion

von bis zu 18 K.^[237] In den im Rahmen dieser Arbeit dargestellten funktionalisierten Ag_2HgI_4 -Nanopartikeln (außer PVA-funktionalisierte Partikel) und in der unfunktionalisierten makroskopischer Phase konnten durch XRD-Messungen AgI-Verunreinigungen nachgewiesen werden. Abbildung 121 zeigt alle Röntgenpulverdiffraktogramme im Vergleich.

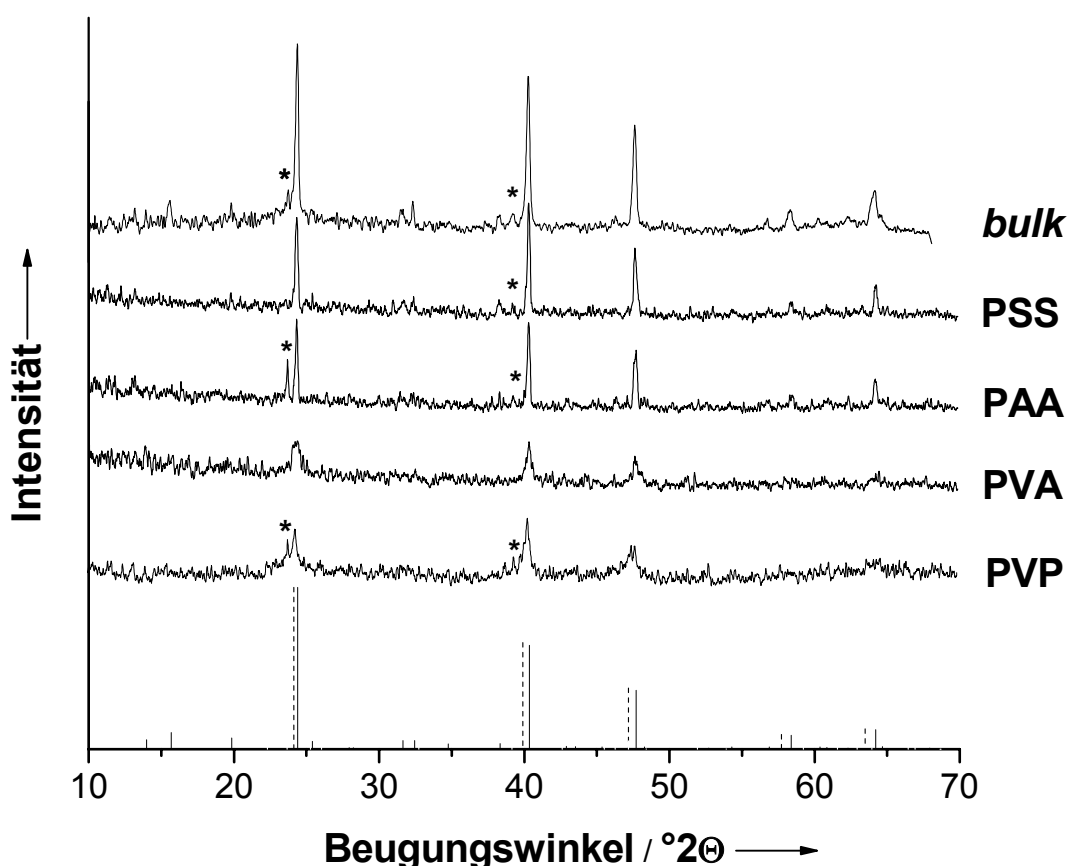


Abbildung 121: Vergleich der Röntgenpulverdiffraktogramme der funktionalisierten und unfunktionalisierten Ag_2HgI_4 -Proben; die zusätzlich dargestellten Reflexlagen zeigen die berechnete α -Form (gestrichelt, ICDD 77-0168) und die berechnete β -Form (massiv, ICDD 74-0168). Die mit * gekennzeichneten Reflexe resultieren aus einer AgI-Verunreinigung; *bulk* bezieht sich auf die unfunktionalisierte Form.

Die AgI-Verunreinigung erklärt das Auftreten der Peakaufspaltung der PVP-funktionalisierten und unfunktionalisierten Proben. Im gleichen Zusammenhang werden auch die Phasenumwandlungsenthalpien diskutiert. Diese reichen für die makroskopische Phase nach Angaben verschiedener Autoren von 1.21 bis hin zu 8.72 kJ mol^{-1} .^[233,238-240] Grund hierfür ist erneut nach Friesel et al. die Verunreinigung durch AgI. Die in dieser Arbeit ermittelten Enthalpien für die Phasenumwandlung der

3. Ergebnisse und Diskussion

Nanopartikel reichten von 3.8 bis hin zu 8.5 kJ mol⁻¹ und lagen somit im Bereich der in der Literatur beschrieben ist. Die Enthalpien für die Aufheiz- und Abkühlphasen wichen für eine Partikelart maximal um 0.5 kJ mol⁻¹ ab. Es war nicht möglich die Agl-Verunreinigungen in den in dieser Arbeit vorgestellten Systemen mit Hilfe der Energiedispersiven Röntgenabsorptionsspektroskopie (EDX) zu quantifizieren, da die Proben sensitiv auf den Röntgenstrahl reagierten und kontinuierlich Hg und I verloren. Aus demselben Grund konnte auch keine Rietveld-Analyse durchgeführt werden.

Ausblickend auf die mögliche Anwendung der in dieser Arbeit dargestellten Polymer-funktionalisierten Ag₂HgI₄-Nanopartikel als temperatursensitive Beschichtungen in Sensoren sollte zunächst eine Synthesestrategie entwickelt werden, die eine Agl-Verunreinigung möglichst ausschließt. Erst dann kann geklärt werden, ob und wenn ja in wie weit die Partikelgröße bzw. die Natur der Funktionalisierung einen Einfluss auf die thermochrome Temperatur haben. Zu diesem Zeitpunkt kann diesbezüglich keine Aussage getroffen werden.

4. Zusammenfassung

Es wurden zwei unterschiedliche funktionalisierte Nanopartikelarten vorgestellt. Auf der einen Seite standen die bereits in der Literatur viel beschriebenen Calciumphosphat-Nanopartikel, die sich durch ihre hervorragende Biokompatibilität auszeichnen. Auf der anderen Seite standen die erstmals synthetisierten Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel, die besonders interessant durch ihre Stoffeigenschaft der Thermochemie sind.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden erstmals, in Kooperation mit der Universität Lissabon, kalorimetrische Untersuchungen zur Bildung von Calciumphosphat-Nanopartikeln durchgeführt. Trotz des seit Jahren bestehenden großen Interesses an diesen Partikeln wurden die energetischen Aspekte bei der Fällung der Partikel noch nie untersucht. Es konnte die Standardreaktionsenthalpie zur pH-abhängigen Bildung der Calciumphosphat-Nanopartikel aus der Reaktion von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ über die Methode der Durchflusskalorimetrie bestimmt werden. Die Standardreaktionsenthalpie war zunächst endotherm, wird mit steigendem pH-Wert exotherm, um dann mit weiter steigendem pH-Wert wieder endotherm zu werden. Es konnte geklärt werden, dass dieser ungewöhnliche Verlauf zunächst durch die Zusammensetzung der Partikel und später durch die Änderung der Kristallinität ausgelöst wird. Die Kenntnis dieser Ergebnisse kann in Bezug auf die gezielte Darstellung maßgeschneiderter Calciumphosphat-Nanopartikel von großer Relevanz sein. Dies ist besonders im Hinblick auf eine anschließende Modifizierung bzw. Funktionalisierung der Partikel interessant.

Die Darstellung funktionalisierter Calciumphosphat-Nanopartikel wurde im weiteren Verlauf dieser Arbeit vorgestellt. Es konnte gezeigt werden, dass es möglich ist Calciumphosphat-Nanopartikel mit verschiedensten synthetischen und biologischen Polymeren zu funktionalisieren. So funktionalisierte Partikel trugen positive oder negative Ladungen und konnten mehrere Wochen stabil in Dispersion vorliegen. Die Polymerschicht um die Partikel nahm ca. 10-30 % der Gesamtmasse des Partikels ein. Gerade die Funktionalisierung mit Biopolymeren wie CMC ist von großem Interesse, da so vollständig biokompatible Partikelsysteme erreicht werden können. Auf der Basis von funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln schloss sich die Betrachtung zweier Anwendungsmöglichkeiten an.

4. Zusammenfassung

Die mit positiv geladenem PAH-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden als Template zur Darstellung von Polymernanokapseln verwendet. Dabei wurden nach der *Layer-by-Layer*-Methode eine weitere negativ geladene PSS-Schicht und eine weitere PAH-Schicht aufgetragen. Der Calciumphosphat-Kern wurde durch eine Kombination aus pH-Wert-Absenkung und Dialyse mit dem Einsatz von Ionentauschern herausgelöst. Die resultierenden Polymernanokapseln waren allerdings nicht stabil genug, um sie befüllen zu können.

Des Weiteren wurden PSS bzw. CMC-funktionalisierte Calciumphosphat-Nanopartikel als mögliche Wirkstoffträgersysteme zum Einsatz in der Photodynamischen Therapie diskutiert. Es konnte gezeigt werden, dass die Photosensibilisatoren Methylenblau und *m*THPP in die Polymerschicht an den Calciumphosphat-Nanopartikeln eingebaut werden können. Die Oberflächenladung der Partikel ließ sich durch die Aufbringung weiterer Polymerschichten nach der *Layer-by-Layer*-Methode variieren. So funktionalisierte und mit Photosensibilisatoren beladene Calciumphosphat-Nanopartikel wurden in Kooperation mit der Firma *biolitec AG* an jeweils einer Krebs-, Synoviozyten- und Makrophagen-Zelllinie sowie an einer Gram-positiven und Gram-negativen Bakterienkultur getestet. Die Ergebnisse waren vielversprechend, besonders in Bezug auf den antimikrobiellen Einsatz.

Im letzten Kapitel der Arbeit wurde im Gegensatz zu den biologisch/medizinisch geprägten Anwendungen von Calciumphosphat-Nanopartikeln die Funktionalität von Ag_2Hgl_4 -Nanopartikeln besprochen. Die Verbindung Ag_2Hgl_4 besitzt die Eigenschaft der Thermochromie. Das bedeutete, dass sie ihre Farbe in Abhängigkeit der Temperatur reversibel verändert. Im Rahmen dieser Arbeit ist es erstmals gelungen, mit Polymeren funktionalisierte Ag_2Hgl_4 -Nanopartikel darzustellen. Im Vordergrund stand demnach die eingehende Charakterisierung dieser Partikel, besonders im Hinblick auf die thermochrome Eigenschaft. Es konnte gezeigt werden, dass alle dargestellten Ag_2Hgl_4 -Partikelsysteme sowohl in Dispersion als auch als Feststoff thermochrom sind.

5. Literatur

- [1] D. H. Everett, *Grundzüge der Kolloidwissenschaft*, Steinkopf Verlag, Darmstadt, (1992).
- [2] Malvern, *Zeta Potential an Introduction in 30 minutes*, Worcestershire, UK.
- [3] H.-D. Dörfler, *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme*, Springer, Berlin, (2002).
- [4] E. Koppel, *J. Chem. Phys.*, **57**, (1972), 4814.
- [5] G. B. Sukhorukov, E. Donath, H. Lichtenfeld, E. Knippel, M. Knippel, A. Budde, H. Möhwald, *Colloids Surf. A*, **137**, (1998), 253.
- [6] C. Schiller, M. Epple, *Biomaterials*, **24**, (2003), 2037.
- [7] D. Tadic, F. Beckmann, K. Schwarz, M. Epple, *Biomaterials*, **47**, (2004), 3335.
- [8] Y. Cai, R. Tang, *J. Mater. Chem.*, **18**, (2008), 3775.
- [9] N. M. Hancox, *Biology of bone*, Cambridge University Press, Cambridge, (1972).
- [10] R. A. Robinson, *Clin. Orthop.*, **112**, (1975), 263.
- [11] A. H. Reddi, *Nature Biotechnol.*, **16**, (1998), 247.
- [12] S. V. Dorozhkin, M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, (2002), 3130.
- [13] M. Epple, *Biomaterialien und Biomineralisation*, B. G. Teubner, Wiesbaden, (2003).
- [14] M. Epple, F. Peters, K. Schwarz, *Composite aus Polyglycolid und Calciumphosphat als potentielle Knochenersatzmaterialien*, *Symposium 4: Werkstoffe für die Medizintechnik*, Wiley-VCH, München, (1999).
- [15] D. Tadic, M. Epple, *Biomed. Technik*, (2001), 224.
- [16] D. Tadic, F. Peters, M. Epple, *Biomaterials*, **23**, (2002), 2553.
- [17] D. Tadic, A. Veresov, V. I. Putlayev, M. Epple, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **24**, (2003), 1048.
- [18] C. Schiller, C. Rasche, M. Wehmöller, F. Beckmann, H. Eufinger, M. Epple, S. Weihe, *Biomaterials*, **25**, (2004), 1239.
- [19] S. Weiner, H. D. Wagner, *Annu. Rev. Mater. Sci.*, **28**, (1998), 271.
- [20] X. Cheng, L. Kuhn, *Int. J. Nanomed.*, **2**, (2007), 667.
- [21] E. Boanini, M. Gazzano, K. Rubini, A. Bigi, *Adv. Mater.*, **19**, (2007), 2499.
- [22] B. Palazzo, M. Iafisco, M. Laforgia, N. Margiotta, G. Natile, C. L. Bianchi, D. Walsh, S. Mann, N. Roveri, *Adv. Funct. Mater.*, **17**, (2007), 2180.

- [23] L. Kuhn, *Targeted active agent delivery system based on calcium phosphate nanoparticles*, US Patent, US 2008/0241256 A1, (2008).
- [24] V. Sokolova, M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, (2008), 1382.
- [25] I. Roy, S. Mitra, A. Maitra, S. Mozumdar, *Int. J. Pharm.*, **250**, (2003), 25.
- [26] T. Welzel, I. Radtke, W. Meyer-Zaika, R. Heumann, M. Epple, *J. Mater. Chem.*, **4**, (2004), 2213.
- [27] A. Maitra, *Exp. Rev. Mol. Diagn.*, **5**, (2005), 893.
- [28] Y. Kakizawa, S. Furukawa, A. Ishii, K. Kataoka, *J. Controlled Release*, **111**, (2006), 368.
- [29] V. Sokolova, I. Radtke, R. Heumann, M. Epple, *Biomaterials*, **27**, (2006), 3147.
- [30] V. Sokolova, A. Kovtun, O. Prymak, W. Meyer-Zaika, E. A. Kubareva, E. A. Romanova, T. S. Oretskaya, R. Heumann, M. Epple, *J. Mater. Chem.*, **17**, (2007), 721.
- [31] D. Olton, J. Li, M. E. Wilson, T. Rogers, J. Close, L. Huang, N. P. Kumta, C. Sfeir, *Biomaterials*, **28**, (2007), 1267.
- [32] A. Doat, M. Fanjul, F. Pelle, E. Hollande, A. Lebugle, *Biomaterials*, **24**, (2003), 3365.
- [33] A. Doat, F. Pelle, N. Gardant, A. Lebugle, *J. Solid State Chem.*, **177**, (2004), 1179.
- [34] A. Lebugle, F. Pelle, C. Charvillat, I. Rousselot, J. Y. Chane-Ching, *Chem. Commun.*, (2006), 606.
- [35] S. P. Mondejar, A. Kovtun, M. Epple, *Journal of Materials Chemistry*, **17**, (2007), 4153.
- [36] V. Sokolova, A. Kovtun, R. Heumann, M. Epple, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **12**, (2007), 174.
- [37] R. E. Johnson, R. L. Biltonen, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, (1975), 2349.
- [38] M. A. A. O'Neill, A. E. Beezer, C. Labetoulle, L. Nicolaides, J. C. Mitchell, J. A. Orchard, J. A. Connor, R. B. Kemp, D. Olomolaiye, *Thermochim. Acta*, **399**, (2003), 63.
- [39] M. A. A. O'Neill, A. E. Beezer, G. J. Vine, R. B. Kemp, D. Olomolaiye, P. L. O. Volpe, D. Oliveira, *Thermochim. Acta*, **413**, (2004), 193.
- [40] P. R. Stoesser, S. J. Gill, *Rev. Sci. Instr.*, **38**, (1967), 422.
- [41] P. Monk, I. Wadso, *Acta Chem. Scand.*, **22**, (1968), 1842.

- [42] B. S. Harsted, E. S. Thomsen, *J. Chem. Thermodyn.*, **6**, (1974), 549.
- [43] B. S. Harsted, E. S. Thomsen, *J. Chem. Thermodyn.*, **6**, (1974), 557.
- [44] B. S. Harsted, E. S. Thomsen, *J. Chem. Thermodyn.*, **7**, (1975), 369.
- [45] R. Tanaka, P. J. Darcy, G. C. Benson, *Thermochim. Acta*, **11**, (1975), 163.
- [46] L. H. M. Janssen, T. H. A. Nelen, *J. Biol. Chem.*, **254**, (1979), 5300.
- [47] L. H. M. Janssen, J. H. M. Dröge, F. C. J. Durlinger, F. J. Fruytier, *J. Biol. Chem.*, **260**, (1985), 11442.
- [48] V. Štefuca, I. Voštiar, J. Šefčovičová, J. Katrlík, V. Mastihuba, M. Greifová, P. Gemeiner, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **72**, (2006), 1170.
- [49] P. Monk, I. Wadso, *Acta Chem. Scand.*, **23**, (1969), 29.
- [50] J. Debord, M. Harel, J. C. Bollinger, B. Verneuil, L. Merle, T. Dantoine, *Thermochim. Acta*, **427**, (2005), 85.
- [51] M. Leskin, C. E. S. Bernardes, M. E. Minas da Piedade, *in Vorbereitung*, (2008).
- [52] C. E. S. Bernardes, FCUL: Lissabon, **2007**.
- [53] H. Elfeki, I. Khattech, M. Jemal, C. Rey, *Thermochim. Acta*, **237**, (1994), 99.
- [54] T. I. Ivanova, O. V. Frank-Kamenetskaya, A. B. Kol'tsov, V. L. Ugolkov, *J. Solid State Chem.*, **160**, (2001), 340.
- [55] E. E. Berry, *J. Inorgan. Nucl. Chem.*, **29**, (1967), 317.
- [56] S. C. J. Loo, Y. E. Siew, S. Ho, F. Y. C. Boey, J. Ma, *J. Mater. Sci - Mater. Med.*, **19**, (2008), 1389.
- [57] J. C. Elliott, *Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates*, Elsevier, Amsterdam, (1994).
- [58] K. Edelman, *Kolloidchemie*, Steinkopf Verlag, Darmstadt, (1975).
- [59] B. Wiley, Y. Sun, B. Mayers, Y. Xia, *Chem. Eur. J.*, **11**, (2005), 454.
- [60] F. Kim, S. Connor, H. Song, T. Kuykendall, P. Yan, *Angew. Chem.*, **116**, (2004), 3759.
- [61] L. Le Trong, T. Le Duc, I. Robinson, D. Ung, T. Bien, J. Long, A. I. Cooper, D. G. Fernig, N. T. K. Thanh, *J. Mater. Chem.*, **18**, (2008), 2453.
- [62] M. Lattuada, T. A. Hatton, *Langmuir*, **23**, (2006), 2158.
- [63] H. Urch, C. Geismann, M. Ulbricht, M. Eppe, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **37**, (2006), 422.
- [64] H. Urch, S. Franzka, D. Dahlhaus, N. Hartmann, E. Hasselbrink, M. Eppe, *J. Mater. Chem.*, **16**, (2006), 1798.

- [65] R. Gonzalez-McQuire, J.-E. Chane-Ching, E. Vignaud, A. Lebugle, S. Mann, *J. Mater. Chem.*, **14**, (2004), 2277.
- [66] T. Welzel, I. Radtke, W. Meyer-Zaika, R. Heumann, M. Epple, *J. Mater. Chem.*, (2004), 2213.
- [67] I. Estrela-Lopis, S. Leporatti, S. Moya, A. Brandt, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir*, **18**, (2002), 7861.
- [68] H. Urch, Dissertation, Duisburg-Essen, Essen, (2008).
- [69] Vitacert, *Über Zusatzstoffe in Lebensmitteln*, (2002).
- [70] H. K. Cammenga, M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **34**, (1995), 1171.
- [71] C. H. G. Strong, *Extraction of carrageenan from marine algae*, US Patent, DE 19742405436, (1974).
- [72] T. Welzel, W. Meyer-Zaika, M. Epple, *Chem. Commun.*, (2004), 1204.
- [73] N. Al Khouri Fallouh, L. Roblot-Treupel, H. Fessi, J. P. Devissaguet, F. Puisieux, *Int. J. Pharm.*, **28**, (1986), 125.
- [74] C. Mayer, *Int. J. Artif. Organs*, **28**, (2005), 1.
- [75] G. Decher, J. D. Hong, J. Schmitt, *Thin Solid Films*, **210**, (1992), 831.
- [76] G. Decher, *Science*, **277**, (1997), 1232.
- [77] G. B. Sukhorukov, in *Dendrimers, Multilayer Hollow Microspheres*, **5**, Citus Books, London, (2002), 111.
- [78] D. G. Shchukin, K. Köhler, H. Möhwald, G. B. Sukhorukov, *Angew. Chem.*, **117**, (2005), 3375.
- [79] D. M. El-Sherif, M. A. Wheatley, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **66**, (2003), 347.
- [80] D. H. Kim, M. J. Costello, P. B. Duncan, D. Needham, *Langmuir*, **19**, (2003), 8455.
- [81] R. v. Klitzing, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, (2006), 5012.
- [82] L. M. Liz-Marzán, M. Giersig, P. Mulvaney, *Langmuir*, **12**, (1996), 4329.
- [83] H. Trotter, A. A. Zaman, P. R., *J. Colloid Interface Sci.*, **286**, (2005), 233.
- [84] Y. Wang, A. Yu, F. Caruso, *Angew. Chem.*, **117**, (2005), 2948.
- [85] F. Mallwitz, A. Laschewsky, *Adv. Mater.*, **17**, (2005), 1296.
- [86] X. Qiu, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Mater. Eng.*, **286**, (2001), 591.
- [87] Y. Lvov, G. Decher, H. Möhwald, *Langmuir*, **9**, (1993), 481.
- [88] G. B. Sukhorukov, E. Donath, S. A. Davis, H. Lichtenfeld, F. Caruso, V. I. Popov, H. Möhwald, *Polym. Adv. Technol.*, **9**, (1998), 759.

- [89] Y. Lvov, G. Decher, G. B. Sukhorukov, *Macromolecules*, **26**, (1993), 5396.
- [90] B. S. Han, B. Y. Shen, Z. H. Wang, M. M. Shi, H. W. Li, C. H. Peng, Q. H. Zhao, *Polym. Adv. Technol.*, **19**, (2008), 36.
- [91] X. P. Qiu, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald, *Langmuir*, **17**, (2001), 5375.
- [92] B. D. Jung, J. D. Hong, A. Voigt, S. Leporatti, L. Dähne, E. Donath, H. Möhwald, *Colloids Surf. A*, **198**, (2002), 483.
- [93] F. Caruso, R. A. Caruso, H. Möhwald, *Chem. Mater.*, **11**, (1999), 3309.
- [94] F. Caruso, R. A. Caruso, H. Möhwald, *Science*, **282**, (1998), 1111.
- [95] Z. Dai, L. Dähne, H. Möhwald, B. Tiersch, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, (2002), 4019.
- [96] F. Caruso, H. Möhwald, *Langmuir*, **15**, (1999), 8276.
- [97] R. A. Caruso, A. Susa, F. Caruso, *Chem. Mater.*, **13**, (2001), 400.
- [98] D. Radziuk, D. G. Shchukin, A. Skirtach, H. Möhwald, G. B. Sukhorukov, *Langmuir*, **23**, (2007), 4612.
- [99] E. L. Bizdoaca, M. Spasova, M. Farle, M. Hilgendorff, F. Caruso, *J. Magn. Magn. Mater.*, **240**, (2002), 44.
- [100] A. Voigt, N. Buske, G. B. Sukhorukov, A. A. Antipov, S. Leporatti, H. Lichtenfeld, H. Bäuml, E. Donath, H. Möhwald, *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, (2001), 59.
- [101] I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, N. Gaponik, A. Kornowski, A. L. Rogach, H. Möhwald, *Adv. Mater.*, **13**, (2001), 1684.
- [102] Z. Dai, H. Möhwald, *Chem. Eur. J.*, **8**, (2002), 4751.
- [103] I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, S. Leporatti, G. B. Khomutov, E. Donath, H. Möhwald, *J. Colloid Interface Sci.*, **230**, (2000), 272.
- [104] C. S. Peyratout, L. Dähne, *Angew. Chem.*, **116**, (2004), 3850.
- [105] E. Donath, G. B. Sukhorukov, F. Caruso, S. A. Davis, H. Möhwald, *Angew. Chem.*, **110**, (1998), 2324.
- [106] G. B. Sukhorukov, E. Donath, S. Moya, A. S. Susa, A. Voigt, J. Hartmann, H. Möhwald, *J. Microencapsulation*, **17**, (2000), 177.
- [107] G. B. Sukhorukov, A. A. Antipov, A. Voigt, E. Donath, H. Möhwald, *Macromol. Rapid Commun.*, **22**, (2001), 44.
- [108] A. Voigt, H. Lichtenfeld, G. B. Sukhorukov, H. Zastrow, E. Dorath, H. Bäuml, H. Möhwald, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **38**, (1999), 4037.

- [109] S. Ye, C. Wang, X. Lui, Z. Tong, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **16**, (2005), 903.
- [110] C. Schüller, F. Caruso, *Biomacromolecules*, **2**, (2001), 921.
- [111] A. N. Zelikin, Q. Li, F. Caruso, *Angew. Chem.*, **118**, (2006), 7907.
- [112] C. I. Zoldesi, A. Imhof, *Adv. Mater.*, **17**, (2005), 924.
- [113] M. Dubois, M. Schönhoff, A. Meister, L. Belloni, T. Zemb, H. Möhwald, *Phys. Rev. E*, **74**, (2006), 1539.
- [114] A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **111**, (2004), 49.
- [115] D. G. Shchukin, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Angew. Chem.*, **115**, (2003), 4609.
- [116] D. V. Volodkin, A. I. Petrov, M. Prevot, G. B. Sukhorukov, *Langmuir*, **20**, (2004), 3398.
- [117] W. Jia, X. Chen, H. Lu, P. Yang, *Angew. Chem.*, **118**, (2006), 3423.
- [118] D. I. Gittins, F. Caruso, *Adv. Mater.*, **12**, (2000), 1947.
- [119] D. I. Gittins, F. Caruso, *J. Phys. Chem.*, **105**, (2001), 6846.
- [120] K. S. Mayya, B. Schoeler, F. Caruso, *Adv. Funct. Mater.*, **13**, (2003), 183.
- [121] F. Caruso, *Chem. Eur. J.*, **6**, (2000), 413.
- [122] F. Caruso, D. Trau, H. Möhwald, R. Renneberg, *Langmuir*, **16**, (2000), 1485.
- [123] S. Krol, A. Diasparo, R. Magrassi, P. Ballario, B. Grimaldi, P. Filetici, P. Ornaghi, P. Ramoino, A. Gliozzi, *IEEE Trans. Nanobiosci.*, **3**, (2004), 32.
- [124] W. Tong, C. Gao, *J. Mater. Chem.*, **18**, (2008), 3799.
- [125] J. Schwiertz, Diplomarbeit, Universität Duisburg-Essen, Essen, (2005).
- [126] J. Schwiertz, W. Meyer-Zaika, L. Ruiz-Gonzalez, J. M. Gonzalez-Calbet, M. Vallet-Regi, M. Epple, *J. Mater. Chem.*, **18**, (2008), 3831.
- [127] V. Dudnik, G. B. Sukhorukov, I. L. Radtchenko, H. Möhwald, *Macromolecules*, **34**, (2001), 2329.
- [128] G. B. Sukhorukov, in *Novel Methods to Study Interfacial Layers, Designes nano-engineered polymer films on colloidal particles and capsules*, Elsevier Science B. V., Potsdam/Golm, (2001), 384.
- [129] M. Sumper, S. Lorenz, E. Brunner, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42**, (2003), 5192.
- [130] E. Brunner, K. Lutz, M. Sumper, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6**, (2004), 854.
- [131] K. Lutz, C. Gröger, M. Sumper, E. Brunner, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **7**, (2005), 2812.

- [132] I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Colloids Surf. A*, **202**, (2002), 127.
- [133] A. S. Angelatos, A. P. R. Johnston, Y. Wang, F. Caruso, *Langmuir*, **23**, (2007), 4554.
- [134] R. Bonnett, *Chemical aspects of photodynamic therapy*, **1**, Gordon and Breach Science Publishers, London, (2000).
- [135] T. J. Dougherty, *J. Photochem. Photobiol., A*, **45**, (1987), 879.
- [136] Y. N. Konan, R. Gruny, E. Allemann, *J. Photochem. Photobiol., B*, **66**, (2002), 89.
- [137] J. G. Levy, M. Obochi, *Photochem. Photobiol.*, **64**, (1996), 737.
- [138] J. Moan, K. Berg, *Photochem. Photobiol.*, **53**, (1991), 549.
- [139] U. Mrowietz, G. Schmid-Ott, *Schuppenflechte*, **2**, Karger, Basel, (2005).
- [140] O. Raab, *Z. Biolog.*, **39**, (1900), 524.
- [141] H. von Tappeiner, A. Jodlbauer, *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, **80**, (1904), 427.
- [142] T. Matsubara, K. Kusuzaki, A. Matsumine, K. Shintani, H. Satonaka, A. Uchida, *Anticancer Res.*, **26**, (2006), 187.
- [143] D. B. Tada, L. L. R. Vono, E. L. Duarte, R. Itri, P. K. Kiyohara, M. S. Baptista, L. M. Rossi, *Langmuir*, **23**, (2007), 8194.
- [144] H. C. Dees, T. C. Scott, J. Smolik, E. A. Wachter, W. G. Fisher, *Topical halogenated xanthenes for photodynamic treatment*, US Patent, US 20080118578, (2008).
- [145] U. Schmidt-Erfurth, S. Michels, L. Indorf, R. Eggers, R. Birngruber, *Curr. Eye Res.*, **30**, (2005), 601.
- [146] J. N. Silva, P. Filipe, P. Morliere, J.-C. Maziere, J. P. Freitas, C. J. L. Cirne De, R. Santus, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **16**, (2006), 147.
- [147] Y. Chen, G. Li, R. K. Pandey, *Curr. Org. Chem.*, **8**, (2004), 1105.
- [148] A. C. S. Samia, X. Chen, C. Burda, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, (2003), 15736.
- [149] A. C. S. Samia, S. Dayal, C. Burda, *Photochem. Photobiol.*, **82**, (2006), 617.
- [150] G. Kirdaite, N. Lange, N. Busso, H. van den Bergh, P. Kucera, A. So, *Arthritis Rheum.*, **46**, (2002), 1371.
- [151] R. Ackroyd, C. Kelty, N. Brown, M. Reed, *Photochem. Photobiol.*, **74**, (2001), 656.

- [152] C. J. Lightdale, S. K. Heier, N. E. Marcon, J. S. McCaughan, H. Gerdes, B. F. Overholt, M. V. Sivak Jr., G. V. Stiegmann, H. R. Nava, *Gastrointest. Endosc.*, **42**, (1995), 507.
- [153] R. Fink-Puches, A. Hofer, J. Smolle, H. Kerl, P. Wolf, *J. Photochem. Photobiol. B*, **41**, (1997), 154.
- [154] J. P. Diaz-Jimenez, J. E. Martinez-Ballarín, A. Llunell, E. Farrero, A. Rodriguez, M. J. Castro, *Eur. Respir. J.*, **14**, (1999), 800.
- [155] J. Feyh, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **36**, (1996), 175.
- [156] P. Wyss, V. Schwarz, D. Dobler-Girdziunaite, R. Hornung, H. Walt, A. Degen, M. Fehr, *Int. J. of Cancer*, **93**, (2001), 720.
- [157] S. Andrejevic-Blant, C. Hadjur, J. P. Ballini, G. Wagnieres, C. Fontolliet, H. van den Bergh, P. Monnier, *Br. J. Cancer*, **1021-1028**, (1997).
- [158] P. J. Muller, B. C. Wilson, *Semin. Surg. Oncol.*, **11**, (1996), 346.
- [159] A. D. Beischer, P. Bhanthal, R. de Steiger, D. Penn, S. Styllis, *ANZ J. Surgery*, **72**, (2002), 517.
- [160] T. Maisch, J. Baier, B. Franz, M. Maier, M. Landthaler, R.-M. Szeimies, W. Bäumlér, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104**, (2007), 7223.
- [161] M. Wainwright, *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2**, (2005), 263.
- [162] M. Wainwright, *J. Antimicrob. Chemother.*, **42**, (1998), 13.
- [163] T. Maisch, *Lasers. Med. Sci.*, **22**, (2007), 83.
- [164] M. Grinholc, B. Szramka, K. Olender, A. Graczyk, *Acta. Chim. Pol.*, **54**, (2007), 665.
- [165] E. A. Dupouy, D. Lazzeri, E. N. Durantini, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **3**, (2004), 992.
- [166] M. Wainwright, *Biotechnic. Histochem.*, **78**, (2003), 147.
- [167] K. Konopka, T. Goslinski, *J. Dent. Res.*, **86**, (2007), 694.
- [168] H. H. Wasserman, R. W. Murray, *Singlet Oxygen*, Academic Press, New York, (1979).
- [169] M. Ochsner, *Photochem. Photobiol. B.*, **39**, (1997), 1.
- [170] H. Maeda, Y. Matsumura, *Cancer Res.*, **46**, (1986), 6387.
- [171] R. Duncan, *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2**, (2003), 347.

- [172] H. B. Ris, H. J. Altermatt, R. Inderbitzi, R. Hess, B. Nachbur, C. M. Steward, Q. Wang, C. K. Lim, R. Bonnett, M. C. Beerenbaum, *Br. J. Cancer*, **64**, (1991), 1116.
- [173] U. Isele, K. Schieweck, R. Kessler, P. V. Hoogevest, H. G. Capraro, *J. Pharm. Sci.*, **84**, (1995), 166.
- [174] J. Taillefer, N. Brasseur, J. E. van Lier, V. Lenaerts, D. Le Garrec, J. C. Leroux, *J. Pharm. Pharmacol.*, **53**, (2001), 166.
- [175] D. Dye, J. Watkins, *Br. J. Med.*, **208**, (1980), 1353.
- [176] D. Gao, R. R. Agayan, H. Xu, M. A. Philbert, R. Kopelman, *Nano Lett.*, **6**, (2006), 2383.
- [177] A. Khdair, B. Gerard, H. Handa, G. Mao, M. P. V. Shekhar, J. Panyam, *Mol. Pharm.*, **5**, (2008), 795.
- [178] Y. N. Konan, M. Berton, R. Gurny, E. Allemann, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **18**, (2003), 241.
- [179] S. Wang, R. Gao, F. Zhou, M. Selke, *J. Mater. Chem.*, **14**, (2004), 487.
- [180] D. C. Hone, P. I. Walker, R. Evans-Gowing, S. FitzGerald, A. Beeby, I. Chambrier, M. J. Cook, D. A. Russell, *Langmuir*, **18**, (2002), 2985.
- [181] Y. Cheng, A. C. Samia, J. D. P. Meyers, I. Panagopoulos, B. Fei, C. Burda, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, (2008), 10643.
- [182] I. Roy, T. Y. Ohulchanskyy, H. E. Pudavar, E. J. Bergey, A. R. Oseroff, J. Morgan, T. J. Dougherty, P. N. Prasad, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, (2003), 7860.
- [183] T. K. Jain, I. Roy, T. K. De, A. Maitra, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, (1998), 11092.
- [184] H. H. Weetall, *Biochim. Biophys. Acta Enzym.*, **212**, (1970), 1.
- [185] K. Ganesan, A. Kovtun, S. Neumann, R. Heumann, M. Eppe, *J. Mater. Chem.*, **18**, (2008), 3655.
- [186] J. Schwiertz, A. Wiehe, S. Gräfe, B. Gitter, M. Eppe, *eingereicht*, (2008).
- [187] I. Lehmann, Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität Jena, (2008).
- [188] N. Plötner, Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität, Jena, (2006).
- [189] P. D'Andrea, A. Calabrese, M. Grandolfo, *Biochem. J.*, **329**, (1998), 681.
- [190] Z. Dai, A. Voigt, S. Leporatti, E. Donath, L. Dähne, H. Möhwald, *Adv. Mater.*, **13**, (2001), 1339.
- [191] J. P. Tardivo, A. del Giglio, C. Santos de Oliveira, D. Santesso Gabrielli, H. Couto Junqueira, D. Batista Tada, D. Severino, R. de Fatima Turchiello, M. S. Baptista, *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2**, (2005), 175.

- [192] K. Koenig, V. Bockhorn, W. Dietel, H. P. Schubert, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **113**, (1987), 301.
- [193] R. Bonnett, P. Charlesworth, B. D. Djelal, S. Foley, D. J. McGarvey, T. G. Truscott, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **2**, (1999), 325.
- [194] N. Lourette, B. Maunit, L. Bezdetnaya, H.-P. Lassalle, F. Guillemin, J.-F. Muller, *Photochem. Photobiol.*, **81**, (2005), 691.
- [195] I. Nadra, J. C. Mason, P. Philippidis, O. Florey, C. D. W. Smythe, G. M. McCarthy, R. C. Landis, D. O. Haskard, *Circ. Res.*, **96**, (2005), 1248.
- [196] I. Nadra, A. R. Boccaccini, P. Philippidis, L. C. Whelan, G. M. McCarthy, D. O. Haskard, R. C. Landis, *Atherosclerosis*, **196**, (2008), 98.
- [197] W. Li, M. Oestblom, L. H. Xu, A. Hellsten, P. Leanderson, B. Liedberg, U. T. Brunk, J. W. Eaton, X.-M. Yuan, *FASEB Journal*, **20**, (2006), 2281.
- [198] A. E. Ewence, M. Bootman, H. L. Roderick, J. N. Skepper, G. McCarthy, M. Epple, M. Neumann, C. M. Shanahan, D. Proudfoot, *Circ. Res.*, **103**, (2008), 28.
- [199] G. Schneider, G. Decher, *J. Am. Chem. Soc.*, **6**, (2006), 530.
- [200] N. S. Soukos, L. A. Ximenez-Fyvie, M. R. Hamblin, S. S. Socransky, T. Hasan, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**, (1998), 2595.
- [201] T. Maisch, C. Bosl, R.-M. Szeimies, N. Lehn, C. Abels, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **49**, (2005), 1542.
- [202] S. Banfi, E. Caruso, L. Buccafurni, V. Battiti, S. Zazzaron, P. Barbieri, V. Orlandi, *J. Photochem. Photobiol. B*, **85**, (2006), 28.
- [203] M. R. Hamblin, D. A. O'Donnell, N. Murthy, K. Rajagopalan, N. Michaud, M. E. Sherwood, T. Hasan, *J. Antimicrob. Chemother.*, **49**, (2002), 941.
- [204] G. P. Tegos, M. Anbe, C. Yang, T. N. Demidova, M. Satti, P. Mroz, S. Janjua, F. Gad, M. R. Hamblin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **50**, (2006), 1402.
- [205] A. S. Garcez, M. S. Ribeiro, G. P. Tegos, S. C. Nunez, A. O. C. Jorge, M. R. Hamblin, *Lasers Surg. Med.*, **39**, (2007), 59.
- [206] E. Meusel, *Chem. Ber.*, **3**, (1870), 123.
- [207] J. A. A. Ketelaar, *Z. Kristallogr.*, **80**, (1931), 190.
- [208] J. A. A. Ketelaar, *Z. Kristallogr.*, **80**, (1931), 436.
- [209] H. Hahn, G. Frank, W. Klingler, *Z. anorg. allg. Chem.*, **279**, (1955), 271.
- [210] K. W. Browall, J. S. Kasper, H. Wiedemeier, *J. Solid State Chem.*, **10**, (1974), 20.

- [211] J. A. A. Ketelaar, *Z. Kristallogr.*, **87**, (1934), 327.
- [212] J. A. A. Ketelaar, *Trans. Farad. Soc.*, **34**, (1938), 874.
- [213] S. Hull, D. A. Keen, *J. Phys. Condens. Matter*, **13**, (2001), 5597.
- [214] S. Hull, D. A. Keen, *J. Phys. Condens. Matter*, **12**, (2000), 3751.
- [215] V. Fernández, F. Jaque, J. M. Calleja, *Solid State Commun.*, **59**, (1986), 803.
- [216] H.-R. C. Jaw, M. A. Mooney, T. Novinson, W. C. Kaska, J. I. Zink, *Inorg. Chem.*, **26**, (1987), 1387.
- [217] S. S. N. Potty, M. A. Khadar, *Bull. Mater. Sci.*, **23**, (2000), 361.
- [218] J. Schwiertz, A. Geist, M. Eppe, *Dalton Transact. (in press)*, (2009).
- [219] V. Leute, H. Rusche, *J. Phys. Chem. Solids*, **42**, (1981), 303.
- [220] G. Schon, R. Schmidt, *Thermochim. Acta*, (1985), 79.
- [221] I. K. Akopyan, B. V. Novikov, *Solid State Ionics*, **89**, (1996), 333.
- [222] T. J. Neubert, G. M. Nichols, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, (1958), 2619.
- [223] R. W. Asmussen, P. Andersen, *Acta Chim. Scan.*, **12**, (1958), 939.
- [224] T. Tamberg, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **31**, (1969), 377.
- [225] K. Funke, *Progr. Solid State Chem.*, **11**, (1976), 345.
- [226] T. Wong, M. Brodwin, *Solid State Ionics*, **5**, (1981), 489.
- [227] B.-E. Mellander, M. Friesel, *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, **35**, (1987), 7902.
- [228] J. G. Hughes, *J. Chem. Educ.*, **75**, (1998), 57.
- [229] B. Baranowski, M. Friesel, A. Lunden, *Solid State Ionics*, **9&10**, (1983), 1179.
- [230] M. Friesel, A. Lunden, B. Baranowski, *Phys. Rev. B*, **32**, (1985), 2506.
- [231] A. Lunden, M. Friesel, B. Baranowski, *Transp.-Struct. Relat. fast ion mixed conduct., Proc. Risoe Int. Symp. Metall. Mater. Sci.*, **6**, (1985), 407.
- [232] B. Baranowski, M. Friesel, A. Lunden, *Phys. Rev. B*, **33**, (1986), 7753.
- [233] M. Friesel, B. Baranowski, A. Lunden, *Thermochim. Acta.*, **131**, (1988), 191.
- [234] M. Friesel, A. Lunden, *Solid State Ionics*, **28**, (1988), 194.
- [235] M. Friesel, B. Baranowski, A. Lunden, *J. Phys. Chem.*, **94**, (1990), 1113.
- [236] C. H. Bachman, J. B. Maginnis, *J. Am. Phys.*, **19**, (1951), 424.
- [237] J. Jaffray, *J. Rech. Centre Natl. Rech. Sci. Lab. Bellevue*, **8**, (1957), 125.
- [238] J. A. A. Ketelaar, *Z. Phys. Chem. B*, **30**, (1935), 53.
- [239] Y. Otsubo, A. Nitta, M. Kaneko, Y. Iwata, A. Ueki, *Kogyo Kagaku Zasshi*, **68**, (1966), 1716.
- [240] P. O. Brien, M. P. Palmer, *Thermochim. Acta*, (1981), 371.

6. Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

Å	Ångström (=0.1 nm)
AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
AFM	<i>atomic force microscopy</i> (Rasterkraftmikroskopie)
CaP	Calciumphosphat
CaP/PSS/MB	PSS-funktionalisierte und mit Methylenblau beladene Calciumphosphat-Nanopartikel
CaP/PSS/ <i>m</i> THPP	PSS-funktionalisierte und mit <i>m</i> THPP beladene Calciumphosphat-Nanopartikel
CaP/PSS/ <i>m</i> THPP/PAH	PSS-funktionalisierte, mit <i>m</i> THPP beladene und mit PAH umgeladene Calciumphosphat-Nanopartikel
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP	CMC-funktionalisierte und mit <i>m</i> THPP beladene Calciumphosphat-Nanopartikel
CaP/CMC/ <i>m</i> THPP/PEI	CMC-funktionalisierte, mit <i>m</i> THPP beladene und mit PEI umgeladene Calciumphosphat-Nanopartikel
CFU	<i>colony forming units</i>
CMC	Carboxymethylcellulose
Disp.	Dispersion
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
DSC	<i>differential scanning calorimetry</i>
DT	Dunkeltoxizität
EA	Elementaranalyse
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
EPR	<i>enhanced permeability and retention</i>
FCS	Fetales Kälberserum
HAP	Hydroxylapatit
Hig-82	die in dieser Arbeit verwendete Synoviozyten-Zelllinie
HRTEM	<i>high resolution transmission electron microscopy</i>
HT29	die in dieser Arbeit verwendete Krebs-Zelllinie
ι-Car	ι-Carrageen

6. Anhang

ICDD	<i>International Centre for Diffraction Data</i>
IR	Infrarot
I. U.	International Units
J774A.1	die in dieser Arbeit verwendete Makrophagen-Zelllinie
kDa	Kilodalton
<i>LbL</i>	<i>Layer-by-Layer</i>
Lsg.	Lösung
MB	Methylenblau
<i>mTHPP</i>	5,10,15,20-Tetrakis(3-hydroxyphenyl)porphyrin
MW	Molekulargewicht
nm	Nanometer
OD	Optische Dichte
PAA	Natriumsalz der Polyacrylsäure
PAH	Polyallylaminhydrochlorid
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
PDI	Polydispersitätsindex
PEI	Polyethylenimin
PDT	Photodynamische Therapie
PMS	N-methyldibenzopyrazinmethylsulfat
PSS	Polystyrolsulfonat
PVA	Polyvinylalkohol
PVP	Polyvinylpyrrolidon
PVS	Polyvinylsulfonsäure
REM	Rasterelektronenmikroskop
RNA	<i>ribonucleic acid</i> , Ribonukleinsäure
TEM	Transmissionselektronenmikroskop
TG	Thermogravimetrie
TGA	Thermogravimetrische Analyse
Tox.	Toxizität
UV	Ultraviolett
XRD	Röntgenpulverdiffraktometrie
XTT	Natrium 3-[(phenylaminocarbonyl)-3,4-tetrazolium]-bis(4-methoxy-6-nitro)benzolsulfonsäure

6.2 Gefahrstoffe und Entsorgung

Chemikalie	Hersteller	Gefahrstoff-symbol	R-Sätze	S-Sätze	Entsorgung
2-Propanol	Fluka	F, Xi	11-36-67	7-16-24/25-26	E1
AgNO ₃	Roth	C, N	34	50/53	E8
Ca(C ₃ H ₅ O ₃) ₂ x 5 H ₂ O	Fluka	-	-	-	E3
CMC 90 kDa	Aldrich	-	-	-	E1
HCl 37 %	Fluka	C	34-37	S 26-36/37/39-45	E2
ι-Carrageen	Aldrich	-	-	-	E1
Ethanol	Merck	F	11	7-16	E1
Hg(NO ₃) ₂	Fluka	T+, N	26/27/28-33-50/53	13-28-45-60-61	E8
KI	Riedel-de Haen	-	-	-	E8
Methylenblau	biolitec	Xn	22	-	E10
mTHPP	biolitec	-	20/21/22-43	1/2-3/7-20/21-22-24/25-36/37/39	E10
(NH ₄) ₂ HPO ₄	Merck	-	-	-	E3
NH ₃ 25 %	Merck	C, N	34-50	26-36/37/39-45-61	E2
KOH	Merck	C	22-35	26-36/37/39-45	E2
PAA 5.1 kDa	Fluka	Xi	36	26-36	E1
PAH 70 kDa	Aldrich	Xn	22-43	36/37	E1
PEI 10 kDa	Aldrich	-	-	-	E2
PSS 70 kDa	Aldrich	-	-	-	E1
PVA 205 kDa	Fluka	-	-	-	E1
PVP 40 kDa	Fluka	-	-	-	E1
Serdolit blue	Serva	-	-	-	E3
Serdolit red	Serva	-	-	-	E3

E 1 Verdünnen, in den Abfluss geben

E 2 Neutralisieren, in den Abfluss geben

E 3 In den Hausmüll geben

E 8 Der Sondermüllbeseitigung zuführen

E 10 In gekennzeichneten Glasbehältern sammeln

6.3 Publikationsliste

Reguläre Publikationen in referierten wissenschaftlichen Fachzeitschriften

J. Schwiertz, W. Meyer-Zaika, L. Ruiz-Gonzalez, J. M. González-Calbet, M. Vallet-Regí, and M. Epple, „*Calcium phosphate nanoparticles as templates for nanocapsules prepared by the layer-by-layer technique*“, J. Mater. Chem., **18**, (2008), 3889.

J. Schwiertz, A. Geist, M. Epple, „*Thermally switchable dispersions of Ag_2Hgl_4 nanoparticles*“, Dalton Transact., *angenommen*.

J. Schwiertz, A. Wiehe, S. Gräfe, B. Gitter, and M. Epple, „*Calcium phosphate nanoparticles as efficient carriers for photodynamic therapy*“, Biomaterials, *in Revision*.

M. Leskiv, A. L. C. Lagoa, H. Urch, J. Schwiertz, M. E. Minas da Piedade, M. Epple, „*Energetics of Calcium Phosphate Nanoparticles Formation*“, J. Phys. Chem., *in Revision*.

Wissenschaftliche Vorträge (P=Poster, V=Vortrag)

BioNanoMat, Marl, 23.11.-25.11.2005, J. Schwiertz, W. Meyer-Zaika, M. Epple, „*Polymeric nanocapsules based on calcium phosphate cores*“ (P)

13. Heiligenstädter Kolloquium "Technische Systeme für Biotechnologie und Umwelt", Heiligenstadt, 25.-27.09.2006, J. Schwiertz, W. Meyer-Zaika, M. Epple „*Polymernanokapseln basierend auf Calciumphosphat-Templaten*“ (P)

DGG-Glasforum, Deutsche Glastechnische Gesellschaft e.V., Offenbach, 18.10.06, H. Urch, J. Schwiertz, M. Epple, „*Nichtmetallische anorganische Biowerkstoffe*“ (V, invited)

2006 MRS Fall Meeting, Boston, USA, 27.11.-01.12.2006, J. Schwiertz, W. Meyer-Zaika, M. Eppe, "*Polymeric nanocapsules based on calcium phosphate templates*" (P)

NanoBio-Europe 2007, Münster, 13.-15.06.2007, J. Schwiertz, W. Meyer-Zaika, M. Eppe, "*Nanocapsules on the basis of a core of calcium phosphate*" (V)

8th Mediterranean Conference on Calorimetry and Thermal Analysis (Medicta 2007), Palermo (Italy), 25.-29.09.2007, M. Leskiv, A. L. C. Lagoa, H. Urch, J. Schwiertz M. E. Minas da Piedade, M. Eppe, "*Thermochemical study of the formation of calcium phosphate nanoparticles*" (V)

Bioceramics20 2007, Nantes, Frankreich, 24.-26.10.2007, J. Schwiertz, W. Meyer-Zaika, M. Eppe, "*Calcium phosphate as core for polymeric nanocapsules*" (V)

World Biomaterials Congress, Amsterdam, 28.05.-01.06.2008, J. Schwiertz, M. Eppe, „*Functionalisation of calcium phosphate nanoparticles with synthetic and natural polymers*" (P)

German-Ukrainian Symposium on Nanoscience and Nanotechnology 2008, 22.-25.09.2008, Essen, J. Schwiertz, M. Eppe "*Synthesis and characterization of thermochromic Ag₂Hgl₄ nanoparticles*" (P)

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien (DGBM) 2008, 20.-22.11.2008, Hamburg, J. Schwiertz, M. Eppe „*Funktionalisierung von Calcium-phosphat-Nanopartikeln mit synthetischen und biologischen Polymeren*" (V)

Patent

J. Schwiertz, K. Ganesan, M. Eppe, A. Wiehe, S. Gräfe, B. Gitter, V. Albrecht, "*Calciumphosphat-based nanoparticles as carrier systems for photodynamic therapy*", Europäische Patentanmeldung EP 080 221 55 (angemeldet 19.12.2008).

6.4 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Janine Claudia Schwiertz
Geburtsdatum:	07. Mai 1981
Geburtsort:	Mülheim, NRW
Familienstand:	ledig
Staatsangehörigkeit:	deutsch

Berufserfahrung

01/2006 – 12/2008	Promotion an der Universität Duisburg-Essen „Funktionalisierte anorganische Nanopartikel: Von Nanokapseln, Photodynamischer Therapie und Thermochromie“
seit 10/2005	Leitung des Anorganisch-Chemischen Praktikums für Fortgeschrittene an der Universität Duisburg-Essen

Auslandsaufenthalte

10/2006, 05/2007:	Forschungsaufenthalt an der Universität Lissabon im Arbeitskreis Prof. Dr. M. da Piedade (DAAD- Austauschprogramm)
10/2007:	Forschungsaufenthalt an der Universität Madrid im Arbeitskreis Prof. Dr. M. Vallet-Regi (DAAD- Austauschprogramm)

Studium

2000	Beginn des Chemiestudiums an der Universität Duisburg-Essen
2002	Vordiplom (Gesamtnote Ø 1,2)
04/2005 bis 09/2005	Anfertigung der Diplomarbeit im Lehrstuhl für Anorganische Chemie bei Prof. Dr. M. Eppe (Note: 1,0)
09/2005	Abschluss als Diplom-Chemikerin (Gesamtnote: Ø 1,2)

Weiterer Bildungsweg

1991 – 2000	Otto-Pankok Gymnasium, Mülheim, Erwerb der Hochschulreife, (Gesamtnote Ø 2,0)
1987 – 1991	Grundschule an der Bruchstraße, Mülheim

Stipendien

10/2000 - 10/2003	Stipendium der Rheinstahlstiftung, Thyssen
03/2003 - 09/2005	Stipendium der Studienstiftung des Deutschen Volkes

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit mit dem Titel

*„Funktionalisierte anorganische Nanopartikel: Von Nanokapseln,
Photodynamischer Therapie und Thermochemie“*

selbst verfasst und keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen
verwendet zu haben.

Zudem erkläre ich, dass ich die Arbeit in dieser oder ähnlicher Form bei keiner
anderen Fakultät eingereicht habe.

Essen, im Dezember 2008

Janine Schwiertz

Danksagung

Ich danke,

Prof. Dr. Matthias Epple für die stetige Unterstützung sowie den gewährten Freiraum bei der Anfertigung dieser Arbeit und für die Ermöglichung meiner Forschungsaufenthalte in Lissabon und Madrid,

Prof. Dr. Christian Mayer für die Übernahme des Koreferats,

meinen Kooperationspartnern der Firma biolitec AG, insbesondere Dr. Arno Wiehe für die Bereitstellung der Photosensibilisatoren, Dr. Burkhard Gitter für die Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der Bakterientest, Dr. Susanna Gräfe für die Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der Zelltests und die ständige Email-Diskussionsbereitschaft,

Prof. Dr. M. da Piedade und seiner Arbeitsgruppe an der Universität Lissabon für die herzliche Aufnahme dort und die Durchführung der Messungen am Durchflussskalorimeter,

Prof. Dr. M. Vallet-Regi und Prof. Dr. J. M. González-Calbet sowie ihren Arbeitsgruppen an der Universität Madrid für die Anfertigung aller HRTEM-Aufnahmen,

Dipl.-Chem. Daniel Schunk aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Christian Mayer für die Anfertigung der AFM-Aufnahmen,

den Kollegen des Arbeitskreises von Prof. Dr. Roland Boese für die Anfertigung der Röntgenpulverdiffraktogramme,

Dr. Wolfgang Meyer-Zaika für die Anfertigung der TEM-Aufnahmen und seinen herrlich erfrischenden Zynismus,

Frau Ursula Giebel, der guten Seele unseres Arbeitskreises, für ihre tatkräftige Unterstützung in allen Lebenslagen,

Dr. Frank Neues für die gemeinsame Zeit am Hasylab sowie den immer gerne angenommenen „nach-Hause-bring-Service“,

6. Anhang

Dr. Holger Nebel für die Einführung in die Thermogravimetrie und für den täglich „wunderschönen guten Morgen“,

Dipl.-Chem. Thomas Annen für die Hilfe bei den DSC-Messungen und die (im Altbau) tägliche Beschallung (Mein linkes Ohr vermisst dich jetzt schon.),

Dipl.-Chem. Manuel Neumeier und Cand.-Chem. Jan Klesing für die praktische Unterstützung (Ich hoffe ich habe euch nicht zu sehr gescheucht.),

Dipl.-Chem. Matthias Matthes und Dipl.-Chem. Thorsten Peitsch für die Hilfe bei der Bewältigung des Computerchaos,

Dipl.-Chem. Dirk Mahl und Dipl. Chem. Paulina Kaempfe für die kritische Durchsicht dieser Arbeit,

Dipl.-Chem. Henning Urch und Dipl.-Chem. Stefanie Kittler für die gute Zusammenarbeit in Lissabon und Madrid sowie die schöne Zeit als direkte „Tischnachbarn“ im Labor,

den technischen Angestellten des AK Epple für die vielen Dinge, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben,

Mein besonderer Dank gilt allen Kollegen, die mir im Laufe der letzten Jahre sehr ans Herz gewachsen sind und die ich zukünftig nicht mehr als Kollegen, auch nicht als Ex-Kollegen, sondern als Freunde bezeichnen werde.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie, besonders meiner Mutter, meinen Mädels und meinem Verlobten Alco für die stetige Unterstützung während meines gesamten Studiums danken. Ihr wart mein Zufluchtsort, mein Ausgleich und mein Ruhepol.